

Lymphgefäßinvasion kolorektaler Adenokarzinome

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

vorgelegt von
Nina Lohrberg
aus Münster

2007

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Reinhard Büttner
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Jörg Kalff

Tag der Mündlichen Prüfung: 19.03.2007

Aus dem Institut für Pathologie der Universitätsklinik Bonn
Direktor: Prof. Dr. med. Reinhard Büttner

Für meine geliebten Eltern
Für Stefan

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	7
1.1. Epidemiologie des kolorektalen Adenokarzinoms	8
1.2. Klinische Symptomatik des kolorektalen Adenokarzinoms	10
1.3. Molekulare Grundlagen der Tumorprogression	11
1.4. Klassifikation und Staging kolorektaler Adenokarzinome	14
1.5. Therapeutische Ansätze zur Behandlung von kolorektalen Karzinomen und deren Nachsorge	17
2. Fragestellung	22
3. Material und Methoden	23
3.1. Untersuchungsgut	23
3.2. Methoden	
3.2.1. Fixation und histologische Standardfärbungen	23
3.2.2. Immunhistochemie	24
3.2.2.1. Färbung mit der Avidin-Biotin-Methode	24
3.2.3. Monoklonale Antikörper	26
3.2.4. Histologische Kriterien zur Beurteilung der Infiltration von Tumorzellen in Lymphgefäße	27
3.2.5. Kontrolle der mikroskopischen Auswertung	28
3.2.6. Statistik	28
4. Ergebnisse	29
4.1. Diagnosegruppe	29
4.2. Klinische Daten	29
4.2.1. Geschlechts- und Altersverteilung	29
4.2.2. Tumorlokalisation	31
4.2.3. Operations- und Gewebeart	33
4.2.4. Operationsart in Korrelation zur Rezidiv- bzw. Metastasenrate	34
4.2.5. Tumorstadien und Tumordifferenzierungsgrade	35
4.2.6. Daten zum klinischen Verlauf	38
4.3. Auswertung der Standard- und immunhistochemischen Färbungen	38
4.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Studie	43

5. Diskussion.....	45
6. Zusammenfassung.....	56
7. Literaturverzeichnis.....	58
8. Anhang.....	65
9. Danksagung.....	73
10. Lebenslauf.....	74

1. EINLEITUNG

Die WHO Klassifizierung von 1989 teilt kolorektale Karzinome ihrer Histologie folgend in verschiedene Untergruppen ein. So werden kolorektale Adenokarzinome, Siegelringzell-Karzinome und Plattenepithelkarzinome unterschieden. Die Adenokarzinome sind die organotypischen, epithelialen Karzinome des kolorektalen Bereichs und Gegenstand dieser Untersuchung. Das kolorektale Adenokarzinom liegt nach WHO Klassifikation definitionsgemäß dann vor, wenn die Lamina muscularis mucosae von Tumorzellen durchbrochen wurde und die Tela submucosa von Tumorzellen infiltriert ist (WHO Klassifikation). Die histologische Vorstufe des kolorektalen Adenokarzinoms ist das kolorektale Adenom. Demnach handelt es sich bei kolorektalen Adenomen um präkanzeröse Läsionen der Dickdarmschleimhaut. Das Entartungsrisiko ist abhängig von der Adenomgröße, der histologischen Differenzierung, dem Grad und dem Ausmaß zellulärer Atypien, der Wuchsform und der Invasionstiefe der Atypien (Compton et al., 2000; Kudo, 1993; Minsky et al., 1988). In diesem Zusammenhang zeigt die Morphologie präkanzeröser Läsionen Interpretationspotential bezüglich der Dignität. Demnach haben die villösen Adenome das größte Entartungsrisiko, gefolgt von tubulovillösen und tubulären Adenomen. Breitbasig aufsitzende Adenome haben ein größeres Risiko zu entarten als gestielte Adenome. Als Grenzmarke zwischen Kolon- und Rektumkarzinom gilt eine Distanz von 16 cm zwischen aboralem Tumorrand und Linea anocutanea (Fielding et al., 1990).

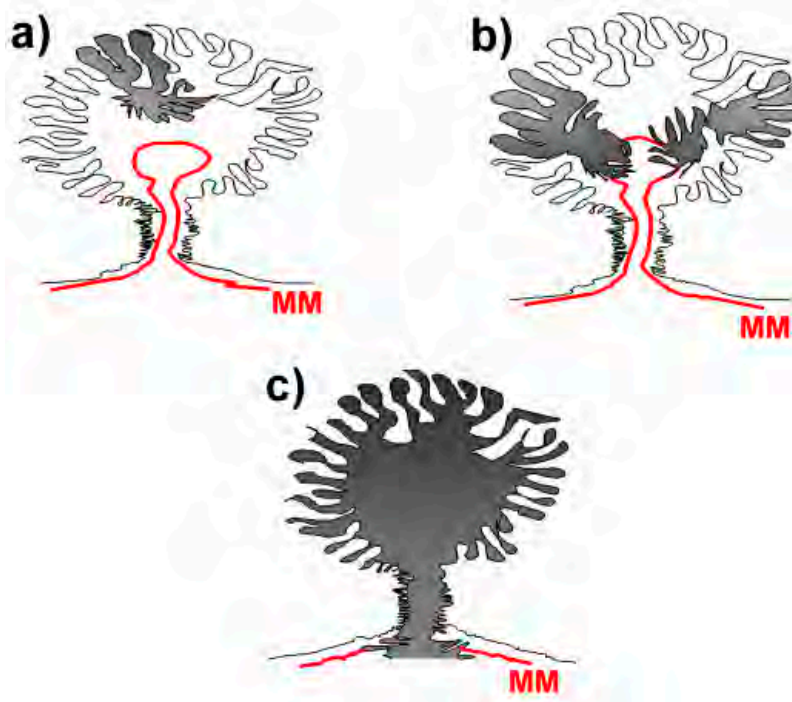


Abb.1: Schematische Darstellung der Adenom-Karzinom-Sequenz (modifiziert nach Otto)

- a) Tubuläres Adenom mit fokaler schwerer Atypie, ausschließlich innerhalb der Schleimhaut lokalisiert. Die Muscularis mucosae (MM) ist durchgehend intakt.
- b) Tubuläres Adenom mit herdförmig schweren Atypien, welche die Muscularis mucosae durchbrechen und unterschiedlich tief in die Submucosa bzw. in den Polypenstiel vorwachsen (=Karzinom).
- c) Polypoides Karzinom.

Dem Adenom-Karzinom-Sequenzmodell für kolorektale Karzinome (Abb.1) folgend werden Atypien, welche die Lamina muscularis mucosae nicht durchbrechen, als Adenom bezeichnet. In Analogie zur Definition der WHO wird ein Durchbruch der atypischen Zellen durch die Lamina muscularis mucosae mit folgender Infiltration der Tela submucosa als karzinomatöses Wachstum verstanden.

1.1. Epidemiologie des kolorektalen Adenokarzinoms

Epidemiologisch betrachtet ist das kolorektale Adenokarzinom das zweithäufigste Karzinom in der Bundesrepublik Deutschland. Jährlich erkranken in Deutschland

schätzungsweise 30.000 Männer und 31.500 Frauen an einem kolorektalen Karzinom. Eine Geschlechtspräferenz besteht bei kolorektalen Adenokarzinomen nicht (Deinlein et al., 2003; Nascimbeni et al., 2002). Das Erkrankungsrisiko steigt nach dem 45. Lebensjahr deutlich an, etwa drei Viertel der Neuerkrankungen werden bei Menschen im Alter von über 60 Jahren entdeckt. Die Inzidenz kolorektaler Karzinome hat ihren Häufigkeitsgipfel zwischen dem siebten und achten Lebensjahrzehnt. Mit über 30.000 Todesfällen pro Jahr stellen die kolorektalen Karzinome die zweithäufigste tumorbedingte Todesursache dar (Dachdokumentation Krebs, Robert-Koch-Institut; Berlin). Etwa 34% aller Karzinome finden sich im Rektum, 30% im Kolon sigmoideum (Sigma) und 33% in den weiter oral gelegenen Kolonabschnitten. Damit sind ca. 65% aller kolorektalen Karzinome im rektosigmoidalen Bereich lokalisiert (Nürnberg et al., 2005).

Zu den Risikofaktoren zählen genetische Faktoren. Man unterscheidet der Ätiologie nach nicht-hereditäre kolorektale Karzinome von hereditären kolorektalen Karzinomen. 10-15% der Patienten mit kolorektalem Karzinom haben eine erbliche Disposition. Davon gibt es zwei Hauptformen: FAP (familiäre adenomatöse Polyposis) und HNPCC (hereditäres nicht-polypöses kolorektales Karzinom). Beide Erkrankungen sind Präkanzerosen und bringen ein erhöhtes Risiko einer karzinomatösen Entartung mit sich (Aarnio et al., 1995; Bülow et al., 1986). Auch haben Menschen mit an einem kolorektalen Karzinom erkrankten Verwandten ersten Grades ein erhöhtes Risiko selbst ein kolorektales Karzinom zu entwickeln (Junck, 2000).

Ein prozentualer Unterschied in der Inzidenzrate kolarektaler Adenokarzinome könnte weiterhin auf einen genetischen Unterschied zwischen ethnischen Gruppen zurückzuführen sein. So könnte die Adenom–Karzinom–Sequenz (Abb.1) durch minimale Abweichungen auf molekulargenetischer Ebene begünstigt werden. Einzelne Stufen der Karzinogenese im Sinne des Tumorprogressionsmodells (Abb.2) könnten aufgrund möglicher chromosomaler Unterschiede von bestimmten Bevölkerungsgruppen mit größerer Wahrscheinlichkeit erreicht werden und so die Tumorprogression begünstigen. So könnte es in einer Bevölkerungsgruppe beispielsweise eine genetisch bedingt erhöhte Prävalenz für die Mutation des APC-Gens, des adenomatous polyposis coli gene, auf Chromosom 5q21 geben. Durch die Mutation bzw. den Funktionsverlust dieses Tumorsuppressor-Gens, welches als

mitverantwortliches Gen für die hereditäre Form des kolorektalen Karzinoms anerkannt ist (Fodde, 2002), könnte es in der betroffenen Bevölkerungsgruppe somit mit größerer Wahrscheinlichkeit zur Entstehung von kolorektalen Karzinomen kommen.

Die These der genetischen Disposition in der Entstehung kolorektaler Karzinome wird durch den Umstand gestützt, dass Patienten mit einem Verwandten ersten Grades, welcher an einem kolorektalen Karzinom erkrankt ist, ein vielfach erhöhtes Risiko haben, ebenfalls ein solches Neoplasma zu entwickeln (Junck, 2000).

Die Überlegung, dass genetische Dispositionen für die Entwicklung von kolorektalen Krebserkrankungen im Erbgut einer ganzen ethnischen Gruppe determiniert sein könnten, liegt zwar in Analogie zu dieser intrafamiliär bewiesenen Determinante durchaus nahe, konnte aber bis heute auch in anderen Studien nicht eindeutig belegt werden.

Patienten, die an chronisch entzündlichen Darmerkrankungen erkrankt sind, zeigen ebenfalls ein statistisch erhöhtes Risiko, ein kolorektales Karzinom zu entwickeln (bei Kolitis ulzerosa deutlich, bei Morbus Crohn gering gradig) (Connell et al., 1994; Ekblom et al., 1990).

Diätetische sowie endogene metabolische Faktoren werden ebenfalls diskutiert. So könnten beispielsweise durch intraluminale, bakterielle Gärungs- und Fermentierungsprozesse im Kolon und Rektum aus Proteinen, Gallensäuren oder Cholesterin karzinogene und/oder co-karzinogene Stoffe entstehen. Eine verzögerte Verweildauer des Nahrungsbreis bei ballaststoffarmer Kost könnte die Einwirkzeit der karzinogenen und co-karzinogenen Stoffe verlängern und so die Entstehung kolorektaler Karzinome begünstigen (Lin et al., 2005).

1.2. Klinische Symptomatik des kolorektalen Adenokarzinoms

Die klinischen Symptome sind abhängig von der Lokalisation und der Größe des kolorektalen Adenokarzinoms. Rektumkarzinome und Karzinome des distalen Sigmas verursachen in 75-80% der Fälle anale Blutungen, teils okkult, teils manifest. Daraus resultiert in vielen Fällen eine Anämie. Bei Karzinomen im Bereich des rechten Kolon sind Anämien häufig das Leitsymptom (Kanellos et al., 2004). Karzinome des proximalen Kolons gehen oft einher mit Meteorismus. Bei Befall des linksseitigen Kolon

sind Stenosen das Leitsymptom (Corsale et al., 2003). Oft fallen diese kolorektalen Karzinome durch eine kolikartige Schmerzsymptomatik auf. Vor allem bei einem stenosierend wachsenden Tumor finden sich Änderungen der Stuhltätigkeit oder auch Obstipation im Wechsel mit Diarrhöen. Eine durch den erhöhten intraabdominellen Druck bedingte, symptomatische Hernie kann Zeichen einer tumorbedingten Obstipation sein (Herold, 2006). Zu schweren Tumorkomplikationen zählen Subileus- und Ileussymprome, massive Blutungen oder auch Perforationen der tumorbefallenen und der prästenotisch dilatierten Darmregionen mit konsekutiv entstehender, fäkulenter Peritonitis. Fortgeschrittene kolorektale Karzinome können in die jeweils anatomisch benachbarten Regionen der Harnblase, der inneren Genitale, der Ureteren, des Sakralplexus oder der Bauchwand infiltrieren und entsprechende Symptomatik hervorrufen (D'Souza et al., 2003; Herranz et al., 2004; Stief et al., 2002). Bei wandüberschreitendem Wachstum kann auch eine Peritonealkarzinose entstehen und mit Aszitesbildung oder durch eine Darmpassagebehinderung auffällig werden. Ein Gewichtsverlust tritt meist erst bei fortgeschrittenen Tumorstadien auf. Lebermetastasen können ab einer gewissen Anzahl und Größe einen Druck im rechten Oberbauch hervorrufen, größere Lungenmetastasen verursachen einen hartnäckigen Reizhusten und die seltenen Knochenmetastasen machen sich durch lokale Schmerzen, unter Umständen auch durch pathologische Frakturen bemerkbar.

1.3. Molekulare Grundlagen der Tumorprogression

Mit Hilfe molekularbiologischer Methoden konnte gezeigt werden, dass die sequenzielle Entwicklung vom Adenom zum Karzinom mit verschiedenen genetischen Veränderungen einhergeht (Fodde, 2002; Takahashi und Wakabayashi, 2004).

Folgende Schritte des sog. Tumorprogressionsmodells sind bekannt (Abb.2):

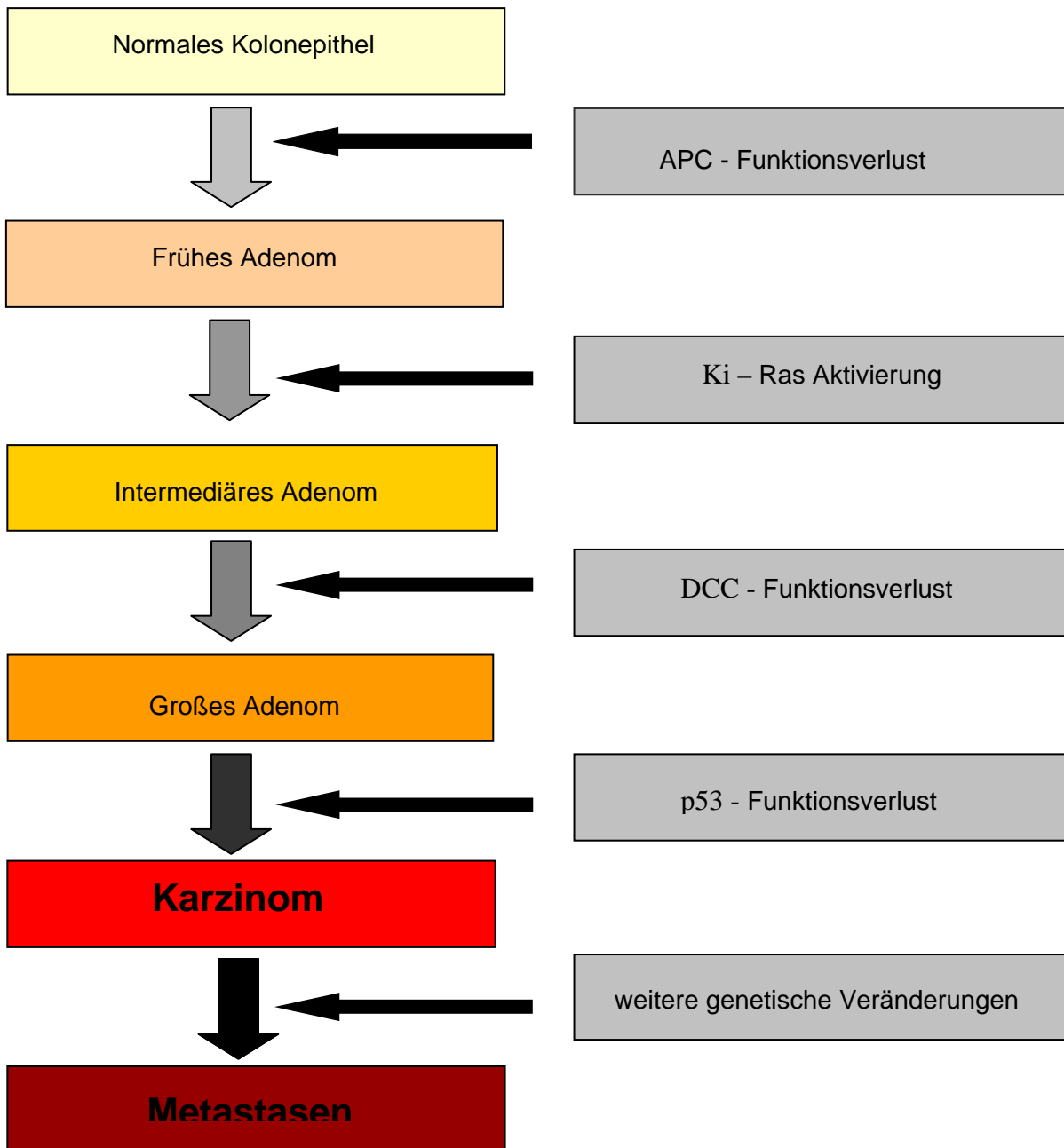


Abb.2 Genetisches Tumorprogressionsmodell der kolorektalen Karzinogenese (modifiziert nach Otto)

Demnach kommt es in Kolonepithelzellen zu einer Mutation bzw. zum Funktionsverlust des APC-Gens, des adenomatous polyposis coli gene, auf Chromosom 5q21. Das APC-Gen ist ein Tumorsuppressorgen und kann bei einem mutationsbedingten Funktionsverlust mitverantwortlich für die hereditäre Form des kolorektalen Karzinoms

sein. Ein Verlust der APC Funktion triggert die Adenom-Karzinom Sequenz (Fodde, 2002). Im Allgemeinen muss eine Intestinalzelle zwei Bedingungen erfüllen, um kanzerogen zu entarten. Sie muss einen selektiven Vorteil erlangen, um sich klonal zu replizieren und als Tumormasse zu expandieren. Des Weiteren muss ein Klima der genetischen Instabilität in der Zelle herrschen, um Mutationen an anderen Genen zu ermöglichen, welche ebenfalls für Tumorprogression und maligne Transformation verantwortlich sein können. Ein Verlust der APC Funktion bewirkt eine dauerhafte Aktivierung des Wnt Signaltransduktions-Pfades. Dadurch kommt es zur chromosomalen Instabilität der Intestinalzelle (Fodde, 2002; Munemitsu et al., 1995; Rubinfeld et al., 1993; Smith et al., 1994). Zwischen dem frühen Adenom und dem intermediären Adenom vollzieht sich eine Mutation auf Chromosom 12p, so dass das Ki-Ras Onkogen aktiviert wird. Ki-Ras ist ein Onkogen, welches für ein intrazelluläres Signalmolekül kodiert. Eine Mutation in Ki-Ras kann in einer dauerhaften Aktivierung von Ki-Ras und der von Ki-Ras beeinflussten Signaltransduktionswege resultieren, der Raf/MEK/MAPK und der PI3K/Akt/PKB Kaskade (Takahashi und Wakabayashi, 2004). Durch eine Deletion auf dem Chromosom 18 (18q21) mit Inaktivierung von DCC (deleted-in-colorectal-carcinoma gene) entsteht eine weitere Mutation in einem Tumorsuppressorgen. DCC kodiert für ein Protein, das Homologie zu Zell-Adhäsions-Molekülen hat; ein Verlust der Funktion von DCC führt zu unkontrolliertem Wachstum der Zellen im Zellverband und so zu einer starken Vergrößerung der Tumorzellmasse (Konishi et al., 1996). Zum entscheidenden Übergang zwischen Adenom und Karzinom kommt es durch die Inaktivierung und den Verlust des Antikodons bzw. des Tumorsuppressorgens p53. Das Tumorsuppressorgen p53 ist als sog. Wächter des Genoms bekannt, reguliert den Zellzyklus und die Apoptose (Takahashi und Wakabayashi, 2004). Im Falle eines Funktionsverlustes von p53 kommt es zu einer unkontrollierten Proliferation und somit zu einer stetigen Vermehrung der Tumorzellmasse (Ichii et al., 1993; Konishi et al., 1996; Miyaki et al., 1994).

Bei diesem Tumorprogressionsmodell dürfte eine bestimmte Reihenfolge in der Ausbildung genetischer Alterationen weniger eine Rolle spielen als vielmehr deren kumulatives Auftreten in zeitlichem Zusammenhang. Dieses zeitlich nicht kalkulierbare Entartungsrisiko sollte bei der Entscheidung bezüglich der operativen Therapieplanung eine Rolle spielen. Das Spektrum der therapeutischen Möglichkeiten bewegt sich

zwischen einer endoskopischen Polypektomie und der radikalen Resektion des betroffenen Darmgewebes mit radikulärer Exstirpation der regionalen Lymphknoten.

1.4. Klassifikation/Staging/Grading kolorektaler Adenokarzinome

Die kolorektalen Adenokarzinome werden ihrem Differenzierungsgrad nach in niedrig- bis hochmaligne kolorektale Adenokarzinome eingeteilt. Der Einteilung des Broder Grading Systems (Broders AC, 1925) folgend, unterscheidet man:

G1 = gut differenzierte Karzinome

G2 = mäßig differenzierte Karzinome

G3 = schlecht differenzierte Karzinome

G4 = undifferenzierte Karzinome

Das lokale Wachstumsverhalten und die Metastasierung der kolorektalen Adenokarzinome wird nach der **TNM**-Klassifikation der UICC von 2002 („Staging“) beurteilt (Tab.3 im Anhang). `T` beschreibt in dieser Einteilung die Lokalisation sowie die Infiltrationstiefe der Atypie. `N` beschreibt die mögliche Beteiligung von Lymphknoten und `M` gibt genaue Angaben über das mögliche Vorhandensein von Fernmetastasen und deren Lokalisation (z.B. Lebermetastasen, Lungenmetastasen, Peritonealkarzinose).

Bezeichnet man die kolorektalen Adenokarzinome genauer nach diesem Schema, so versteht man unter Tis (Tumor in situ/Adenom) sogenannte präinvasive Karzinome, welche entweder intraepithelial liegen oder die Lamina propria mucosae durchbrechen.

Unter T1 Tumoren versteht man, dass sie die Lamina muscularis mucosae durchbrechen und sich so bis in die Tela submucosa (Submucosa) erstrecken.

Ein mit T2 bezeichnetes kolorektales Adenokarzinom ist durch die Submucosa hindurchgewachsen und infiltriert die Lamina muscularis propria.

Die Klassifikation T3 beschreibt einen Tumor, der sich durch die Lamina muscularis propria hindurch in die Tela subserosa erstreckt.

Ein als T4 bezeichneter Tumor durchbricht das viszerale Peritoneum oder infiltriert andere Organe.

Je tiefer der Tumor über die Lamina muscularis mucosae hinaus die Submucosa bzw. die Muscularis propria infiltriert, um so größer wird aufgrund der dort steigenden Dichte von Lymph- und Blutgefäßen das Risiko einer Invasion dieser Strukturen.

Die UICC-Klassifikation fasst die pathologischen und klinischen Daten hinsichtlich Infiltrationstiefe des Primärtumors, Lymphknotenbefall und Fernmetastasierung in klinischen Stadien von 0 bis IV mit prognostischer Gewichtung zusammen. Hierbei entspricht das Stadium 0 einem präinvasiven Karzinom der TNM Klassifikation. Das Stadium IV der UICC-Klassifikation entspricht der maximal fortgeschrittenen Form der TNM-Klassifikation (Tab.4 im Anhang).

Neben T, N und M sowie dem Differenzierungsgrad der malignen Zellen werden auch noch eine Lymphgefäß- (L0/ L1) und eine Veneninvasion (V0/ V1) in die Beurteilung der Prognose einbezogen.

Diese Studie befasst sich nahezu ausschließlich mit pT1N0M0, Stadium I Tumoren.

Die TNM- sowie die UICC-Klassifikation verdeutlicht, wie entscheidend die Lymphgefäßinfiltration für die Ausbreitung und für die Prognose eines Tumors ist. Neben dem Differenzierungsgrad des Tumors spielt demnach seine mögliche Tendenz zur Invasion intramuraler Lymphgefäße eine entscheidende Rolle für das Ausbreitungsverhalten. Das Risiko der lymphogenen Metastasierung der pT1-Karzinome liegt bei ca. 4%. Bei pT2-Karzinomen steigt das Risiko der Metastasierung auf 12% und bei pT3-Karzinomen auf 60% (Blumberg et al., 1999; Deinlein et al., 2003; Sitzler et al., 1997).

Die intramuralen Lymphgefäße des kolorektalen Bereichs sind als Netzstruktur angelegt. Sie verlaufen überwiegend zirkulär und sind durch radiäre Äste verbunden. Im gesunden Darmgewebe ziehen die Lymphgefäße bis zur Lamina muscularis mucosae, ein paar wenige Lymphgefäße ziehen durch sie hindurch in basale Kryptenbereiche (Abb.3).

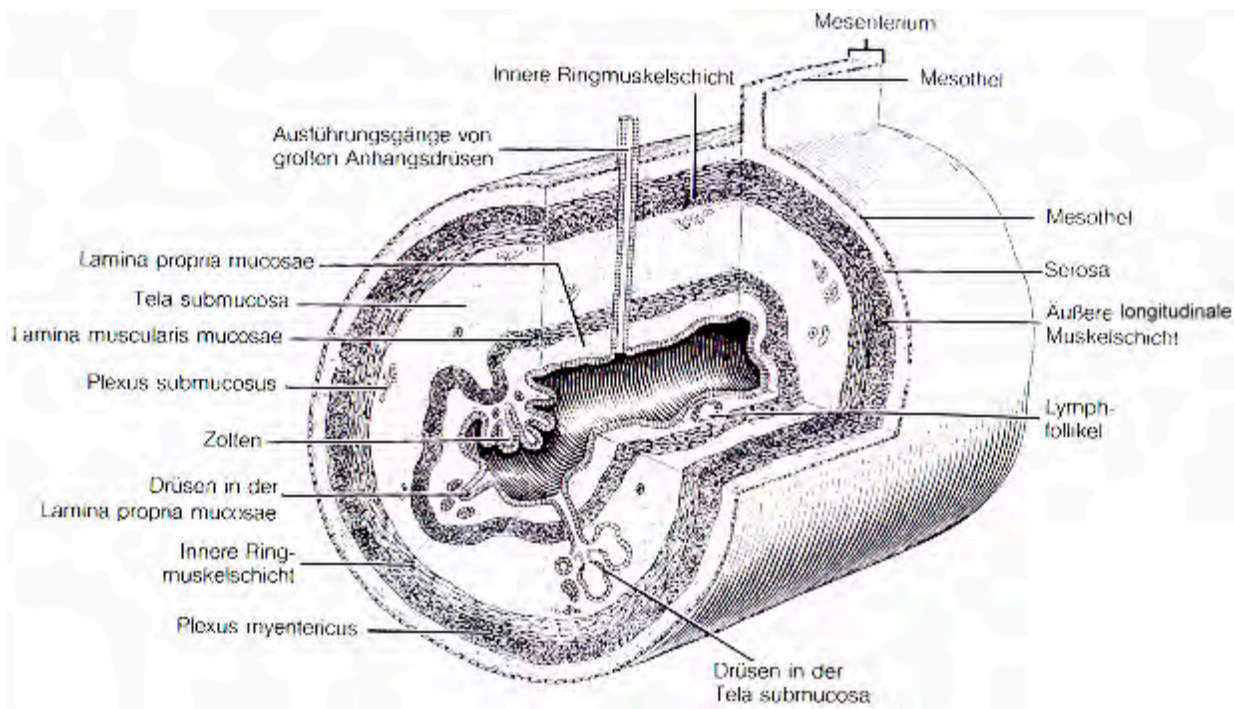


Abb.3: Schema des prinzipiellen Aufbaus des Verdauungskanals

Aus: Bevelander G (1971) Outline of histology, 7th edn. Mosby, St Louis

Neue Untersuchungen ergaben, dass sich die Lymphgefäßstruktur sowohl bei Adenomen, als auch bei invasiven kolorektalen Karzinomen bis in viel oberflächlicher gelegene Abschnitte der Darmschleimhaut ausdehnt (Fogt et al., 2004a). Diese oberflächlichen Gefäße scheinen jedoch nicht direkt mit tiefer liegenden Lymphknoten zu kommunizieren, da eine Metastasierung erst nach Durchbruch der Lamina muscularis mucosae (pT1), also nach erfolgter Infiltration der Submucosa, beobachtet wird.

Die Erkennung einer Invasion der oberflächlichen Lymphgefäße durch Tumorzellen, und zwar auch solchen Lymphgefäßen, die sich oberhalb der Lamina muscularis mucosae befinden, ist für die Prognose von Frühmetastasen und die kurative Behandlung des Patienten von großer Bedeutung. Erst seit kürzester Zeit ist es möglich mit Hilfe von speziellen immunhistochemischen Markern, wie dem monoklonalen Antikörper D2-40,

Lymphgefäße spezifisch anzufärben, und dadurch von Blutgefäßen zu unterscheiden (Kahn und Marks, 2002).

Nachdem diese zusätzliche Möglichkeit zur Feindiagnostik zur Verfügung steht, kann untersucht werden, ob bei Patienten zum Zeitpunkt einer T1-Tumor-Entfernung (mittels endoskopischer Polypektomie bzw. durch die Resektion eines Darmabschnittes) bereits eine Invasion der oberflächlichen Lymphgefäße stattgefunden hatte und so ein erhöhtes Metastasierungsrisiko vorliegt. Gleichzeitig ist es von Interesse, ob Patienten mit nachweisbarer Lymphgefäßinvasion im weiteren Verlauf eher Metastasen bzw. Rezidive entwickelten, als Patienten, bei denen der Tumor ebenfalls im Stadium pT1 entfernt worden war, bei denen aber eine oberflächliche Lymphgefäßinvasion im Nachhinein nicht nachzuweisen ist (Brodsky et al., 1992; Nascimbeni et al., 2002).

Die Untersuchung eines solchen Zusammenhangs ist sinnvoll, da dann ggf. die Entscheidung der therapeutischen Strategie, genauer, die Wahl zwischen der eher risikoärmeren, oberflächlicheren endoskopischen Entfernung von Polypen und der komplizierteren, operativ-chirurgischen Darm-Teilresektion einfacher zu treffen ist.

1.5. Therapeutische Ansätze zur Behandlung von kolorektalen Karzinomen und deren Nachsorge

Die gängige Therapie eines kolorektalen Adenoms, welches je nach Sitz meist bei der digitalen rektalen Austastung oder bei einer endoskopischen Untersuchung entdeckt wird, ist die Abtragung der geweblichen Atypie bis zu ihrer Basis bzw. bis in die umgebende gesunde Schleimhaut. Dies gelingt, je nach Größe und Form des Adenoms, in der Regel durch die endoskopische Polypektomie.

Nach einer Darmreinigung wird der Tumor mit einer Diathermieschlinge eingeschnürt und unter Elektrokoagulation abgetragen. Gestielte Polypen sind bis zu einer Stielstärke von 3 cm hierbei technisch meist gut abzutragen, während die vollständige Abtragung bei sehr flachen Polypen („Mucosaresektion“) ggf. nach Unterspritzen der Läsion schwierig oder unmöglich sein kann. Die Entfernung erfolgt dann nach Laparotomie durch Kolotomie und lokaler Exzision („offene Polypektomie“). Bei karzinomverdächtigen

bzw. histologisch nachgewiesenen entarteten Strukturen, schließt sich eine onkologisch adäquate Resektion des tumortragenden Darmabschnittes und der dazugehörigen Lymphabflusswege mit anschließender End-zu-End Anastomose an. Intraoperativ gilt es jegliche Form der Tumorzellverschleppung, sowohl innerhalb des Darmlumens als auch im gesamten Operationsgebiet, zu vermeiden. Sollten Nachbarorgane tumorbefallen sein, können diese weiträumig mit entfernt werden.

Breitbasige Adenome im distalen Rektum werden durch eine transanale Resektion entfernt, ggf. auch mittels transanaler endoskopischer Mikrochirurgie (Eisele, 2004).

Daraus ergeben sich einige operationstechnische Prinzipien:

1. Radikuläre Resektion d.h. stammnahe Entfernung der zu dem tumortragenden Darmabschnitt gehörigen Gefäße und der begleitenden Lymphabflusswege.
2. Sind Nachbarorgane tumorinfiltriert, so werden diese mit dem tumortragenden Darmabschnitt möglichst en bloc reseziert.
3. Die wasserdichte Unterbindung des Darmlumens kaudal und kranial des Tumors zur Vermeidung intraluminärer Tumorzellverschleppung.
4. Desinfektion der Resektionsränder und Irrigation des Kolonstumpfes mit einer zytoziden Lösung vor der Anastomosierung.
5. „No-touch-isolation-technique“ nach Turnbull: Dabei werden vor Manipulation am Tumor die zugehörigen Gefäße im Sinne der radikulären Resektion unterbunden (Turnbull et al., 1968).

(Kurzgefasste Interdisziplinäre Leitlinien 2004, Deutsche Krebsgesellschaft e.V.)

Ziel der onkologischen Operation ist also die Entfernung des tumortragenden Darmabschnittes mit dem dazu gehörigen regionären Lymphabflussbereich, im Sinne einer R0-Resektion. R0-Resektion bedeutet, dass der Tumor mit einem bestimmten Sicherheitsabstand entfernt wird. Um diesen tatsächlich einzuhalten, ist während der

Operation gegebenenfalls eine Schnellschnittuntersuchung erforderlich. Der Pathologe muss sich dabei festlegen, ob der chirurgische Absetzungsrand des Präparates im Gesunden liegt. Dieser Sicherheitsabstand beträgt bei Karzinomen des Rektums mindestens 2-3 cm (Buchmann, 2003). Zu einer kurativ durchgeführten Operation gehört die Entfernung des entsprechenden Lymphabflussgebietes, insbesondere beim Kolonkarzinom ergeben sich dadurch automatisch größere Abstände des Tumors vom Resektionsrand.

Die histologische Untersuchung ermöglicht eine genaue Aussage zur Tumorausbreitung und soll helfen die Entstehung von Rezidiven, welche durch den Befall von Lymphknoten begünstigt werden könnte, zu vermeiden. Auch stellt der Lymphknotenbefall einen Risikoindikator im Hinblick auf eine hämatogene Streuung dar und begründet dadurch die Indikation zur adjuvanten Chemotherapie. Ist histologisch im Lymphknoten am radikulären Absetzungsrand der Gefäße ein Tumorbefall nachweisbar, kann von einer R0-Situation nicht mehr ausgegangen werden. Bei sehr großen Tumoren (pT4) ist die präoperative, neoadjuvante Radiochemotherapie zu erwägen, um eine Verkleinerung der Tumormasse und damit Resektabilität zu erreichen.

Bei der adjuvanten Therapie muss man in Abhängigkeit der Lokalisation des Primärtumors zwischen Kolonkarzinom und Rektumkarzinom unterscheiden.

Beim Kolonkarzinom im UICC-Stadium III verbessert die postoperative fünfmonatige Gabe von 5-Fluorouracil + Folinsäure die 5-Jahres-Überlebensrate. Beim Rektumkarzinom im UICC-Stadium II und III führt die postoperative Radio/Chemotherapie mit 5-Fluorouracil zu einer Verminderung von Lokalrezidiven um 50% und verbesserter 5-Jahres-Überlebensrate (Kurzgefasste Interdisziplinäre Leitlinien 2004, Deutsche Krebsgesellschaft e.V.).

Die Nachkontrolle erfolgt in einem festen Zeitschema, um asymptotische Rezidive frühzeitig und noch in einem gut therapierbaren Stadium erfassen und behandeln zu können (Kurzgefasste interdisziplinäre Leitlinien der deutschen Krebsgesellschaft, der deutschen Gesellschaft für Chirurgie und der deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten, 2004).

Bei Tumoren im UICC-Stadium I folgt der abgeschlossenen Therapie nach sechs, zwölf und 60 Monaten eine koloskopische, sowie eine laborchemische Nachkontrolle

(inklusive des Tumor-Marker CEA). Ab dem fünften Jahr wird alle drei Jahre koloskopiert. Hierbei wird gegebenenfalls atypisches Gewebe entnommen und vom Pathologen untersucht (Lippert, 2004). Darüber hinaus werden gegebenenfalls bildgebende Diagnostiken wie eine Sonographie und eine Spiral-Computertomographie des Abdomens durchgeführt (Tab.5 im Anhang).

Patienten mit kolorektalen Karzinomen im UICC-Stadium II-III werden in den ersten 24 Monaten nach abgeschlossener Therapie alle sechs Monate körperlich untersucht und abdominal sonographiert. Außerdem wird der Tumormarker CEA laborchemisch kontrolliert. Bis zum 60. Monat erfolgen diese Untersuchungen in zwölf-monatigen Abständen. Eine Röntgen-Thorax Aufnahme erfolgt nach zwölf 24, 36 sowie 60 Monaten. Eine Koloskopie wird im Stadium II-III lediglich nach 24 und 60 Monaten durchgeführt. Gegebenenfalls wird analog zum Vorgehen im UICC-Stadium I atypisches Gewebe entnommen und vom Pathologen untersucht. Bei unklaren Befunden folgt auf diese Untersuchungen eine Spiral-Computertomographie des Abdomens (Tab.6 im Anhang).

In dieser Studie wurde mit Hilfe eines immunhistochemischen Markers, des monoklonalen Antikörpers D2-40, die möglicherweise erfolgte Invasion kleinster intramuraler Lymphgefäße an kolorektalen Adenokarzinomresektaten und endoskopischen abgetragenen Polypen retrospektiv überprüft. Anschließend wurde eine mögliche Abhängigkeit zwischen erfolgter Lymphgefäßinvasion und der Metastasen- bzw. Rezidivrate der Patientenkohorte betrachtet.

Die Studie soll verdeutlichen, dass mit dem spezifischen Marker D2-40 intramurale Lymphgefäße nicht nur gut dargestellt werden können, sondern dass man eine vorhandene Invasion kleinster Lymphgefäße durch Tumorzellen zur Beurteilung des Weiteren therapeutischen Vorgehens, also auch der Empfehlung des Pathologen an den Chirurgen hinsichtlich einer weiteren Therapieerfordernis, nutzen kann (Garcia-Aguilar et al., 2000; Nascimbeni et al., 2002).

Für die Entscheidung der anzuwendenden Therapieform ist das bestehende Risiko einer lokalen lymphogenen Metastasierung der entscheidende Parameter. Nichtsdestotrotz muss bei jeder Therapieentscheidung individuell und gemeinsam mit dem Patienten

zwischen dem Risiko der Lymphknotenmetastase und dem bestehenden operativen Risiko abgewägt werden (Deinlein et al., 2003).

2. FRAGESTELLUNG

Im Einzelnen wurden folgende Fragen untersucht:

1. Kommt es im Rahmen von kolorektalen pT1N0 Adenokarzinomen zu einer Tumorzellinvasion in Lymphgefäße oberhalb und in der Submucosa?
2. Können diese Lymphgefäßinvasionen immunhistochemisch dargestellt und belegt werden?
3. Besteht ein Zusammenhang zwischen diesen oberflächlichen Lymphgefäßinvasionen und der Rezidiv- bzw. Metastasenrate?
4. Entwickeln Patienten, bei denen retrospektiv eine Tumorzellinvasion in die oberflächlichen Lymphgefäße des entfernten Gewebes nachgewiesen wurde, eher eine Tumorzweitmanifestation, wenn im Anschluss an eine endoskopisch durchgeführte Polypentfernung keine radikuläre Darm-Teilresektion erfolgt war?

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Untersuchungsgut

Untersucht wurden Gewebeproben, welche durch endoskopische Polypabtragungen oder durch Teilresektionen betroffener Darmabschnitte gewonnen worden waren. Die Studie umfasst ein Kollektiv von insgesamt 50 Patienten, darunter 24 Männer und 26 Frauen, bei denen zwischen 1992 und 2004 im St.-Marien-Hospital Bonn und in den Städtischen Kliniken Kassel kolorektale Tumore mit einem Tumorstadium pT1 reseziert worden waren.

Von den in Paraffin konservierten Proben wurden 2-3 µm dicke Schnitte angefertigt. Diese wurden anschließend routinemäßig mit Haematoxylin-Eosin (H.E.) angefärbt.

Alle Schnitte, die eine Tumorinvasion durch die Lamina muscularis mucosae hindurch zeigten, wurden mit dem Antikörper Clone D2-40 immunhistochemisch gefärbt.

Pro teilnehmenden Patient gingen durchschnittlich die Schnitte von fünf untersuchten Gewebeblöcken mit in die Untersuchung ein.

Die klinischen Follow-up Daten bezüglich Rezidivbildung und Metastasierung wurde telefonisch mit dem jeweiligen behandelnden Internisten, dem zuständigen Hausarzt oder direkt in persönlichen Patienten- und Angehörigengesprächen abgeklärt.

3.2. Methoden

3.2.1. Fixation und histologische Standardfärbungen

Das entnommene Gewebe wurde in Formalin fixiert (4%iges Formalin) und anschließend in Paraffin eingebettet. Die auf 2-3µm Dicke geschnittenen Präparate wurden routinemäßig mit der H.E.-Färbung gefärbt.

3.2.2. Immunhistochemie

In der Immunhistochemie macht man sich die Tatsache zu Nutze, dass Antikörper, einem Schlüssel-Schloß-Prinzip folgend, spezifisch an Antigene binden. Es entsteht ein Antigen-Antikörper-Komplex.

Jede Gewebeart, jeder Zelltyp hat eine eigene, typische Proteinstruktur, welche antigene Eigenschaften besitzt, an die ein spezifischer Antikörper binden kann.

Durch die Kopplung des Antikörpers an eine enzymatisch katalysierte Farbreaktion mittels der Avidin-Biotin-Methode, kann der Antigen-Antikörper-Komplex sichtbar gemacht und verstärkt werden.

Heutzutage gibt es für diverse Gewebearten bzw. für bestimmte Antigene ein großes Spektrum kommerziell erhältlicher, tierischer „primärer“ bzw. „sekundärer“ Antikörper, was vor allem in der onkologisch-histo-pathologischen Diagnostik von Bedeutung ist.

In der hier vorliegenden Studie wurden monoklonale Antikörper der Maus verwendet. Monoklonale Antikörper werden in der Zellkultur aus Hybridzellen gewonnen, d.h. sie sind untereinander völlig identisch. Die Besonderheit dieser Zellen ist, dass sie die Wachstumseigenschaften von Tumorzellen und die Spezifität von Antikörper-bildenden Zellen vereinen, und so als Quelle für monospezifische Antikörper genutzt werden können.

3.2.2.1. Färbung mit der Avidin-Biotin-Methode

Die über Nacht bei ca. 37° C getrockneten, 2-3 µm dicken Schnitte werden in einem ersten Arbeitsschritt 10 Minuten in Xylol entparaffiniert. Zur Vorbereitung für die immunhistochemische Färbung werden anschließend die Schnitte in prozentual abfallenden Alkohollösungen (100%, 96%, 70%, 50% = „absteigende Alkoholreihe“) wieder rehydriert. Nach Abschluss der Rehydrierung werden die Schnitte mit Tris-Puffer gespült.

Tris-Puffer (Stammlösung): 60,57 g Tris Merck 8382
 500 ml Aqua dest.
 430 ml 1N HCL

Je nach eingesetztem Antikörper muss das Gewebe nun speziell vorbehandelt werden, bevor die eigentliche immunhistochemische Färbung beginnen kann.

Bei der Färbung mit dem Anti-Human Cytokeratin Clone DAKO-CK, MNF116 erfolgt diese Andauung mit 0,1%iger Protease für zehn Minuten bei 37° C.

Für die Färbung mit dem Antikörper Clone D2-40, wird das Gewebe zweimal zehn Minuten bei 600° C in der Mikrowelle erwärmt.

Beide Antikörperfärbungen wurden mit einer Konzentration von 1:25 und mit der geringer konzentrierten Lösung von 1:50 durchgeführt.

Das im Hinblick auf das jeweilige Zielantigen zu untersuchende menschliche Gewebe wurde mit einem primären Antikörper (aus murinen Hybridzellen) inkubiert. Um diese Antigen-Antikörper-Verbindung sichtbar zu machen, wurde anschließend ein sekundärer Antikörper hinzugegeben. Der primäre Antikörper wurde nun vom sekundären Antikörper als Antigen erkannt und gebunden. Der „sekundäre“ Anti-Maus-Gammaglobulin-Antikörper wurde vorher an Biotin gekoppelt, mit welchem ein Komplex aus Avidin, in unserem Falle Streptavidin (Dako, Chem-Mate Detektionskit, Fa. Dako, Dänemark), und Horse-Radish-Peroxidase (HRC) reagiert.

Der „sekundäre“ biotinylierte Antikörper bildet folglich eine Brücke zwischen dem spezifischen Primärantikörper und dem Streptavidin/HRC-Komplex (AB-Komplex DAKO K 355).

Die endogene Peroxidase wurde anschließend mit 3% H_2O_2 abgeblockt. Durch die Zugabe von AEC (AEC-Substrat DAKO K 697), welches als Chromogen fungiert, erfolgte eine Farbreaktion mit HRC, die Lichtmikroskopisch sichtbar ist.

Abschließend wurden die Gewebeschnitte mit Mayer`s Hämalaun gegengefärbt.

Durchgeführt wurden die immunhistochemischen Färbungen mit dem Autostainer der Firma Dako, Dänemark, nach der Methode von Hsu et al. (1981).

3.2.3. Monoklonale Antikörper

In unseren Untersuchungen verwendeten wir Antikörper um Tumorzellen spezifisch anzufärben (Anti-Human-Cytokeratin Clone DAKO-CK, MNF116) und um Lymphgefäße und deren Invasionsstatus darzustellen (Clone D2-40).

In den folgenden Abschnitten sind die einzelnen Antikörper und deren Bedeutung für unsere Untersuchungen kurz erläutert.

Clone D2-40

Der Clone D2-40 der Fa. Signet, Dedham, vertrieben über DSC Hamburg, reagiert mit einem O-Sialoglykoprotein, einem Glykoprotein, das über eine OH-Gruppe mit einem endständigem Sialinsäurerest (Berg et al., 2003) verbunden und auf lymphatischen Endothelien, aber auch auf fetalen Hoden und auf der Oberfläche von Keimzelltumoren des Hodens zu finden ist.

Studien zu Folge zählen zu den positiv reagierenden Zellen außerdem nicht-endotheliale Zellen, wie Mesothelien, follikuläre dendritische Retikulumzellen, interstitielle Zellen von Cajal, einzelne Epithelien der Epidermis, einzelne Hautanhangsgebilde sowie Myoepithelien (Prostata, Mamma, Tränendrüse), basale Epithelien der Nasenschleimhaut und verschiedene mesenchymale Zellen (Sinuswandzellen des Lymphknotens, Fibroblasten sowie Myofibroblasten, Schwann'sche Zellen, Chondrozyten, Osteozyten, Osteoblasten, sowie glatte Muskelfasern (Kaiserling, 2004).

Blutgefäße reagieren bei Anfärbung des Gewebes mit Clone D2-40 (kurz D2-40) immer negativ. Lymphgefäße werden durchgängig markiert. Trotz des relativ breiten Reaktionsspektrums ist der D2-40 ein hervorragend geeigneter Antikörper zur Darstellung reaktiver und neoplastischer Lymphgefäßendothelien (Fogt et al., 2004a; Kahn und Marks, 2002; Kaiserling, 2004;).

Studien zu Folge und für unsere Untersuchungen entscheidend, reagiert der D2-40 im Gastrointestinaltrakt mit den Lymphgefäßen an typischer Stelle und färbt Adenokarzinome des Dickdarms vor allem im Randbereich des Tumors (Kaiserling, 2004).

Anti-Human Cytokeratin Clone DAKO-CK, MNF116

Um die Ausbreitung und Lokalisation von Tumorzellen beurteilen zu können, bedienen wir uns des Nachweises von bestimmten Zytokeratin-Epitopen. Zytokeratine (ZKs) gehören zu den Intermediär-Filamenten, die in fast allen eukaryotischen Zellen am Aufbau des Zellskeletts beteiligt sind. Im Gegensatz zu anderen intermediären Filamenten bestehen die ZKs aus hochkomplexen Polypeptiden und gehören zu den grundlegenden Markern der Epitheldifferenzierung. Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt wurden in verschiedenen Epithelgeweben des Menschen 20 deutlich voneinander unterschiedene ZK-Polypeptide nachgewiesen (Jacques et al., 2005).

Der Anti-Human-Cytokeratin Clone DAKO-CK, MNF116 (kurz Anti Pan-Keratin Antikörper) der Fa. DAKO A/S, Dänemark, reagiert mit einer ganzen Reihe von ZK Epitopen (ZKs: 5,6,8,17,19) und markiert so in normalen Gewebe nahezu alle Epithelien, wie das Plattenepithel, die Epidermis, ekkrine Schweißdrüsen, Brustdrüsen, sowie Amnion- und Trachealepithelien (Goddart et al., 1991; Moll, 1998).

In tumorösen Gewebe reagiert der Anti Pan-Keratin Antikörper mit den Zytokeratin Epitopen von vielen benignen und malignen Gewebe-Läsionen. So werden Adenokarzinome, Mesotheliome, und Plattenepithelkarzinome mit der Anti Pan-Keratin Antikörper-Färbung markiert (Goddart et al., 1991; Nicholson et al., 1997).

Diese Fähigkeit des Anti Pan-Keratin Antikörpers, Adenokarzinomzellen (als epitheliale Zellen) spezifisch anzufärben, machten wir uns im Zuge dieser Studie zu Nutze. Die Lymphgefäßinvasionen, welche mit Hilfe der D2-40-Färbung dargestellt wurde, konnte hiermit kontrolliert werden.

3.2.4. Histologische Kriterien zur Beurteilung der Infiltration von Tumorzellen in Lymphgefäße

Die Schnitt-Präparate der Adenokarzinome wurden zunächst in H.E. gefärbten Schnitten auf eine submucöse Tumordinvasion hin untersucht. Bei Nachweis einer Submucosa-Invasion wurde die Diagnose eines T1 Tumors bestätigt.

Blöcke mit Tumoranteilen wurden anschließend mit dem Lymphgefäß-spezifischen Antikörper D2-40 und dem Anti Pan-Keratin Antikörper angefärbt, um eine mögliche Lymphangiosis karzinomatosa nachzuweisen.

In der mikroskopischen Auswertung wurden angefärbte Lymphgefäße auf Tumorerfiltrationen untersucht und gegebenenfalls mit einer Anti Pan-Keratin Antikörper-Färbung bestätigt, sowie fotodokumentiert (Abb.8-14).

3.2.5. Kontrolle der mikroskopischen Auswertung

Alle Schnittpräparate wurden von zwei unabhängigen Personen doppelblind begutachtet und ausgewertet.

3.2.6. Statistik

Die statistische Auswertung der gewonnen Dateien sowie deren graphische Darstellung erfolgte mittels „Microsoft–Excel“. Statistische Angaben entstanden durch Bildung des arithmetischen Mittelwertes, der Standardabweichung, des Standardfehlers, der Errechnung des Medians sowie des T-Tests nach Student.

4. ERGEBNISSE

4.1. Diagnosegruppe

In den 50 untersuchten Fällen wurde die Diagnose des kolorektalen Adenokarzinoms im Tumorstadium pT1 gestellt.

Zwei Fälle zeigten eine Lymphknotenbeteiligung im Stadium pT1N1 auf. 48 befanden sich im pT1N0 Stadium. Alle Patienten waren deutscher Nationalität.

4.2. Klinische Daten

Detaillierte Angaben zu klinischen und pathomorphologischen Daten der untersuchten Patienten finden sich in Tab.19 im Anhang.

4.2.1. Geschlechts- und Altersverteilung

Das Tumorkollektiv der an kolorektalen Adenokarzinomen erkrankten Patienten umfasst 26 weibliche und 24 männliche Patienten. Das Gesamtkollektiv besteht aus $n = 50$ Patienten.

Das Erkrankungsalter lag im Mittel bei 66,32 Jahren (Standardabweichung 9,81 Jahre, Schwankungsbreite 46 bis 88 Jahre), mit einem Median von 65,50 Jahren. 45 von 50 Patienten erkrankten in der Periode zwischen 50 und 80 Lebensjahren. 13 Patienten erkrankten im Alter zwischen 50 und 59 Jahren, 15 Patienten erkrankten zwischen 60-69 Jahren, 17 Patienten erkrankten zwischen 70 und 79 Jahren (Abb.4 A/B).

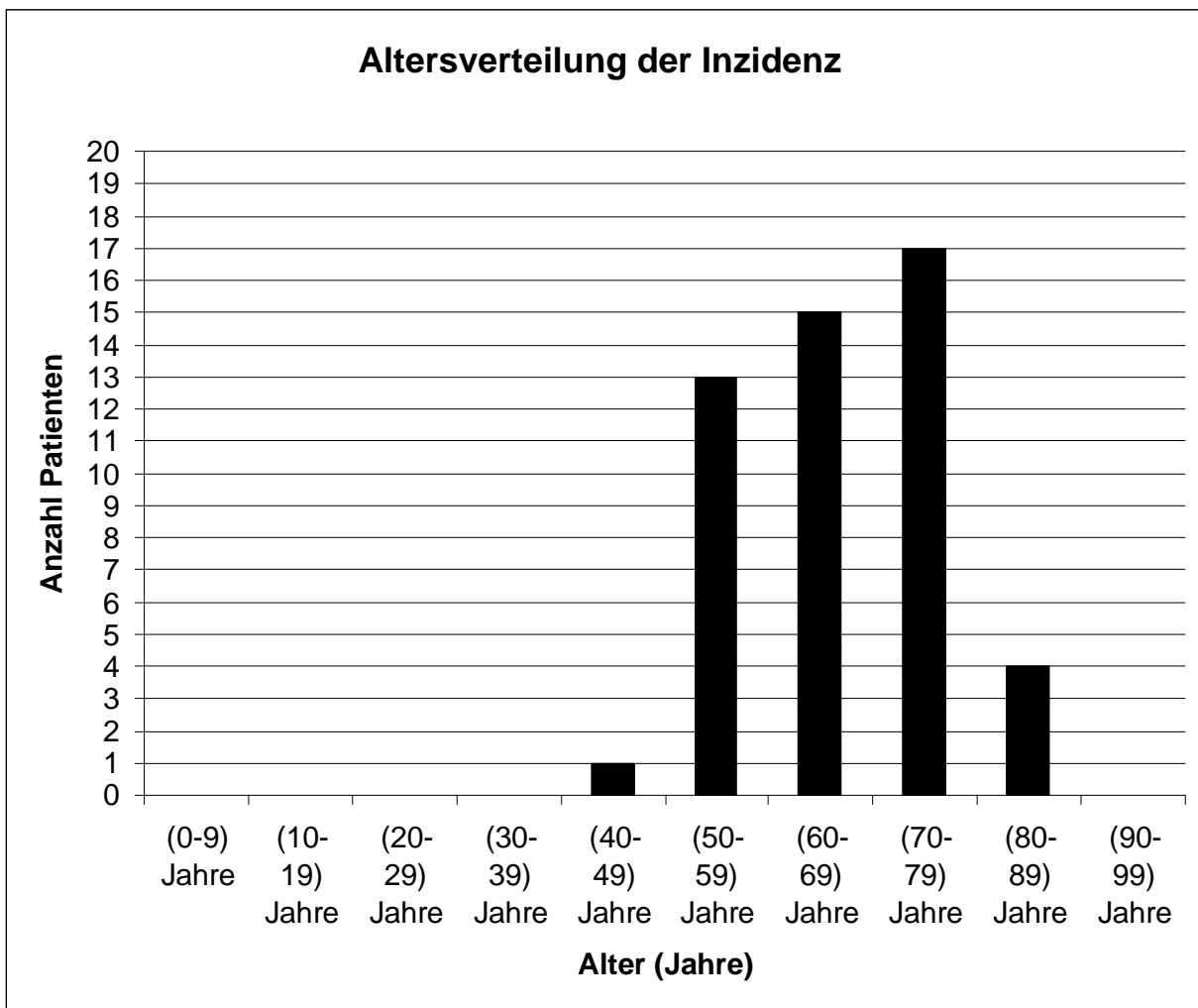


Abb.4A: Altersverteilung der Inzidenz kolorektaler Adenokarzinome (n = 50)

Um einen etwaigen Unterschied des präferentiellen Erkrankungsalters festzustellen, vergleicht man die geschlechtsspezifischen Daten miteinander. Männliche Teilnehmer der Studie erkrankten durchschnittlich mit 66,9 Jahren ($\pm 1,98$ Jahre), weibliche Teilnehmer der Studie erkrankten durchschnittlich mit 65,7 Jahren ($\pm 1,97$ Jahre). Somit ergibt sich zwischen den beiden Geschlechtern kein signifikanter Unterschied im Erkrankungsalter ($p = 0,66$; $p \geq 0,05$) (Abb. 4B).

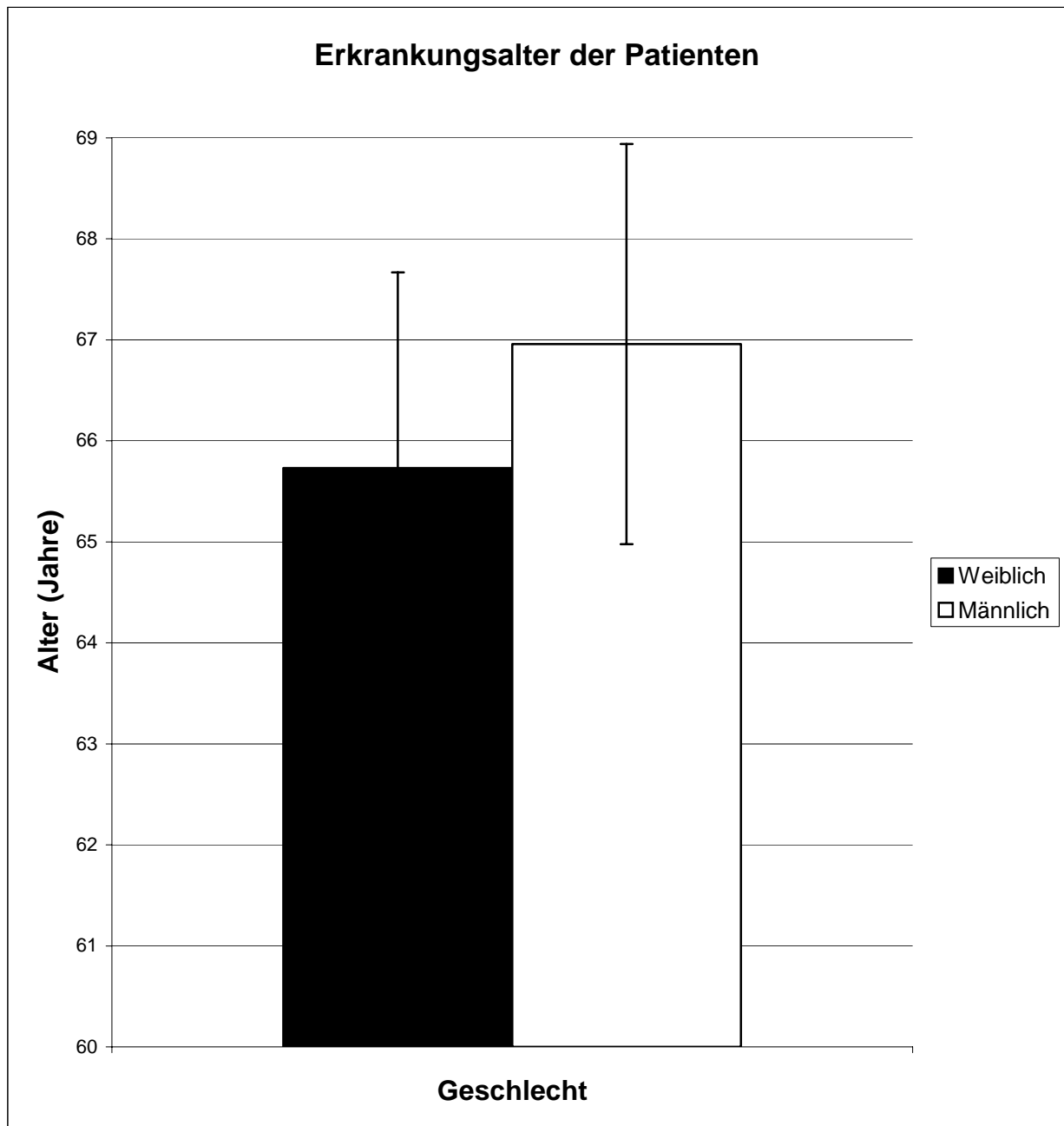


Abb.4B: Durchschnittliches Erkrankungsalter der Patienten, schwarzer Balken = weibliche Teilnehmer; weißer Balken = männliche Teilnehmer

4.2.2. Tumorlokalisation

Im allen Fällen lagen Angaben zur Lokalisation des entnommen Gewebes vor. Neunzehn dieser Präparate wurden dem Sigma, neun dem Rektum zugeordnet. Vier

weitere Präparate entstammten dem rektosigmoidalen Übergang. Damit entstammen 32 Resektate dem rektosigmoidalen Bereich (Abb.5 und 8). In nur einem Fall entstammte das Resektat dem Ileocaecum. In den übrigen 17 Fällen waren keine näheren Angaben zur Tumorlokalisation innerhalb des Kolons vorhanden. In Bezug auf die Tumorlokalisation spiegeln sich die epidemiologischen Erkenntnisse auch in der Analyse der Daten der 50 Patienten der vorliegenden Studie wider. Epidemiologische Studien zeigen, dass ca. 65% aller kolorektalen Karzinome im rektosigmoidalen Bereich lokalisiert sind (Nürnberg et al., 2005).

Lokalisation des Primärtumors

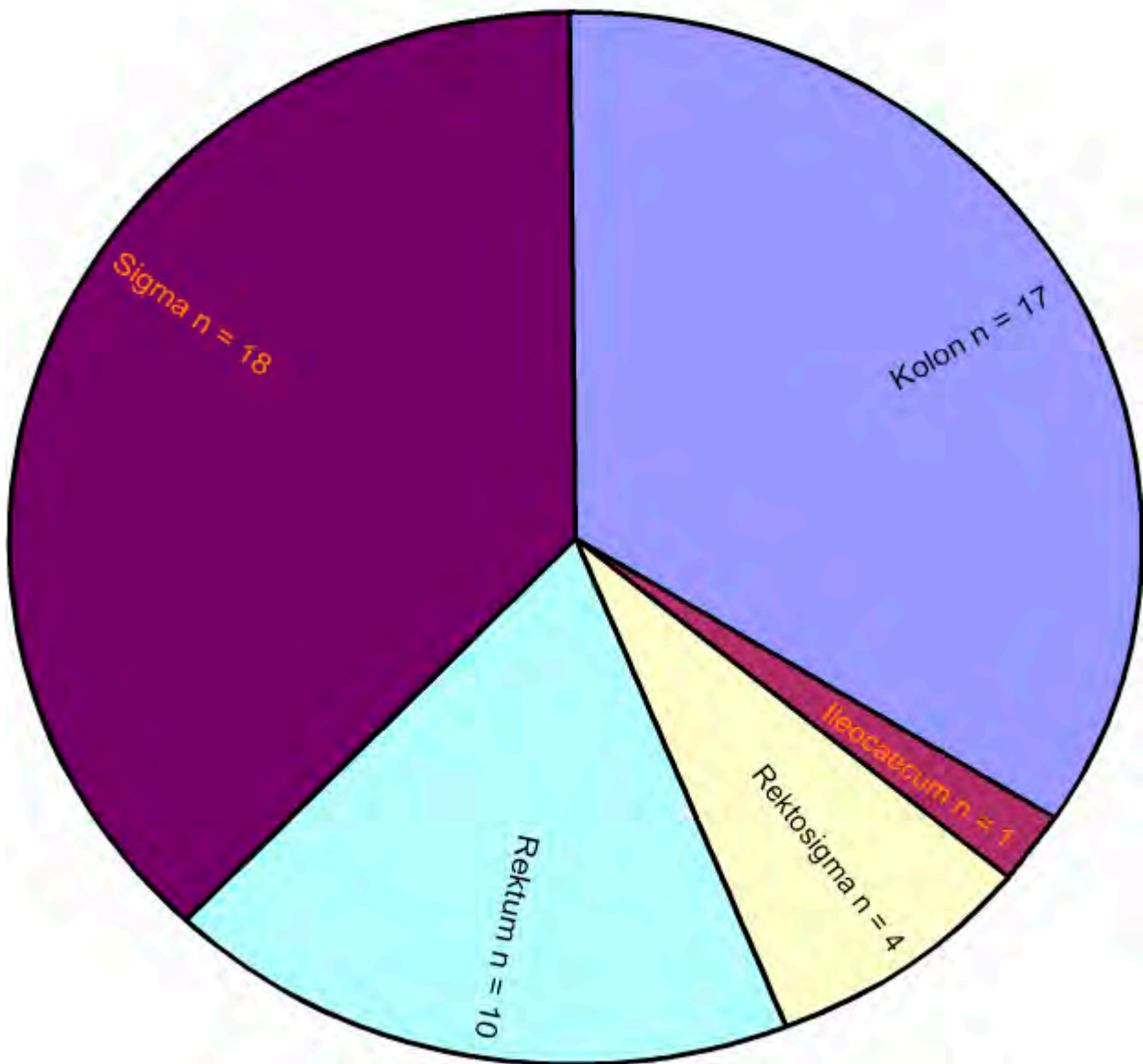


Abb.5: Lokalisation kolorektaler Adenokarzinome (n = 50), Rektosigma = Rektosigmoidaler Bereich

4.2.3. Operations- und Gewebeart

In 20 Fällen wurde der Tumor primär endoskopisch entfernt. Hierdurch war keine Beurteilung einer möglicherweise bereits erfolgten Metastasierung in drainierende

Lymphknoten möglich (pNX). In 17 Fällen folgte der endoskopischen Polypabtragung aufgrund der nicht ausreichenden Entfernung des tumorösen Gewebes eine radikuläre Darm-Teilresektion.

In allen übrigen 30 Fällen wurde primär eine radikuläre Darm-Teilresektion durchgeführt. Die entsprechenden Präparate waren zirkuläre Teilresektate des tumortragenden Darmabschnittes mit zugehörigen Gefäßen im Meso, in denen sich die Darstellung und Beurteilung der Lymphknoten als unproblematisch darstellte.

4.2.4. Operationsart in Korrelation zur Rezidiv- bzw. Metastasenrate

In zwei Fällen (Laufende Nummer 8 und 46) entwickelten sich nach der radikulären Resektion des betroffenen Darmabschnitts ein Rezidiv eines pT1N0 Primärtumors.

Ein Fall (Laufende Nummer 7) zeigte bereits zur Zeit der Diagnosestellung des pT1N0 Karzinoms eine Metastase in der Leber. Die Metastase in der Leber konnte während des operativen Eingriffes der Darm-Teilresektion mit entfernt werden.

Nach der ausschließlichen endoskopischen Abtragung eines Tumors, welche ohne anschließende Nachresektion in drei Fällen erfolgt war, trat in keinem Fall eine Metastase oder ein Rezidiv auf (Tab.1).

L. Nr.	OP-Art	pL	pN	pM	Rezidiv-Lok.	Zeit bis zur Rezidiv-Metastasen-bildung	Follow-up	Details
7	res	0	0	1(Leber)	0	0 Monate	2003-2004	Gesund
8	res	0	0	0	Kolon	84 Monate	1996-2006	Gesund
9	res	0	1	0	0	-	2003-2006	Gesund
13	endo	0	0	0	0	-	1994-1999	Gesund
23	res	1	0	0	0	-	2003-2006	Gesund
30	res	1	0	0	0	-	2003-2004	Gesund
43	endo	0	0	0	0	-	1996-2006	Gesund
45	res	1	1	0	0	-	1992-2002	Gesund
46	res	0	0	0	Ovar	48 Monate	1994-1999	† 1999
49	endo	0	0	0	0	-	1998-2006	Gesund

Tab.1: Übersicht ausgewählter klinischer Daten, Abk.: L. Nr. = Laufende Nummer, OP-Art = Operations-Art, res = radikuläre Darm-Teilresektion, endo = endoskopische Polypektomie, pL = Lymphgefäßinvasion, pN = Lymphknoteninvasion, pM = Metastase, Rezidiv-Lok = Lokalisation des Rezidivs

4.2.5. Tumorstadien und Tumordifferenzierungsgrade

Der UICC-Klassifizierung von 2002 (Staging) folgend, wurde in 47 Fällen ein Stadium pT1N0M0 attestiert. In zwei Fällen waren im Zuge der radikulären Teilresektion eines Darmabschnittes Lymphknoten mitreseziert worden, welche eine Tumorzellinvasion aufwiesen. Diese beiden Fälle befanden sich demnach im Stadium pT1N1M0. Ein Fall wies bereits im pT1N0 Stadium eine Lebermetastase als pM1 auf, sodass hier trotz der geringen Invasionstiefe des Primärtumors ein UICC-Stadium IV vorlag (Tab.1, Abb.6A).

In Abhängigkeit von zytologischen Kriterien und vom Wachstumsmuster der Tumorzellen wurde jeweils der Differenzierungsgrad (Grading) zugeordnet. Die

Tumordifferenzierung wurde in 13 von 50 Fällen als mäßig differenzierte Karzinomstruktur, also in G2 eingestuft. 3 von 50 Fällen wurden als gut differenzierte G1 Karzinome beschrieben. Bei 34 Patienten wurde eine Zelldifferenzierung von G1-2 angegeben, diese wurden keiner Untergruppierung zugeordnet. Höhere Differenzierungsgrade G3 oder G4 wurden in den untersuchten Präparaten nicht beobachtet (Abb.6B).

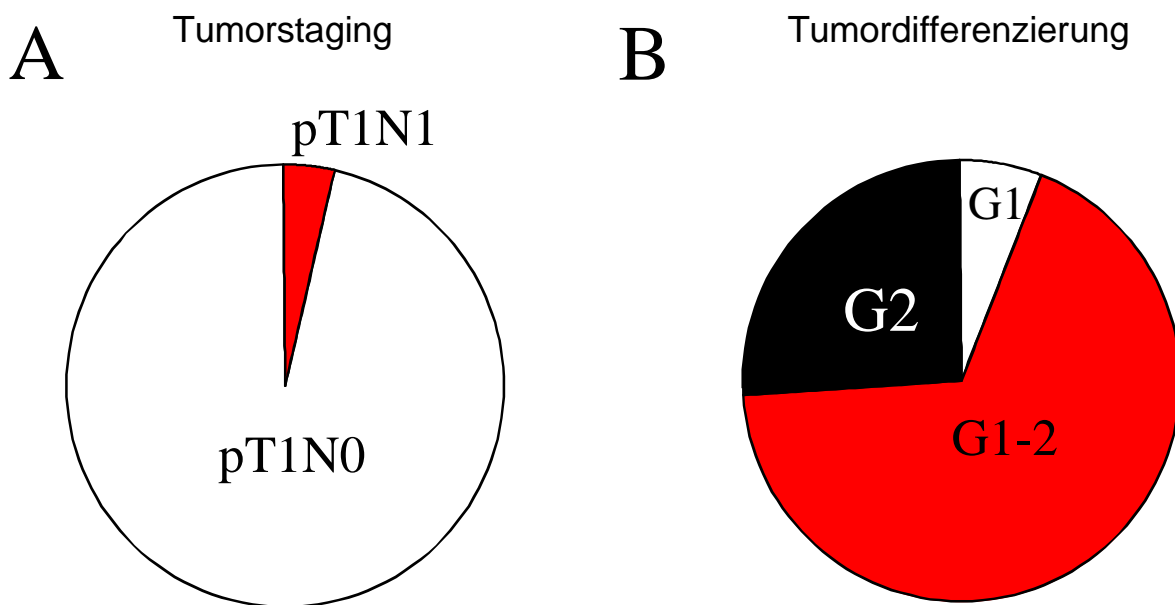


Abb.6: **A** Staging der Tumoren im TNM System (pT1N0 = 48 Fälle, pT1N1 = 2 Fälle); **B** Histologisches Grading der Tumoren im G1-G4 System (G1 = 3 Fälle, G2 = 13 Fälle, G1-2 = 34 Fälle)

In der vorliegenden Studie waren die kolorektalen Karzinome in fünf verschiedenen Darmabschnitten lokalisiert (Abb.5 und 8). Allerdings zeigten sich Unterschiede in der prozentualen Verteilung der Differenzierungsgrade in Abhängigkeit der Lokalisation. So weisen die eher proximal im Darm gelegenen Tumoren tendenziell eine höhere Einstufung im G-System auf als die weiter aboral gelegenen Tumoren (Tab.2, Abb.7).

Lokalisation	G1	G1-2	G2
Ileocaecum	0	0	1
Kolon	0	9	8
Sigma	2	14	2
Rektosigmoid	0	3	1
Rektum	1	8	1

Tab.2: Lokalisation der Tumoren und deren Differenzierungsstufe in Abhängigkeit der Lokalisation. Angaben in absoluten Werten.

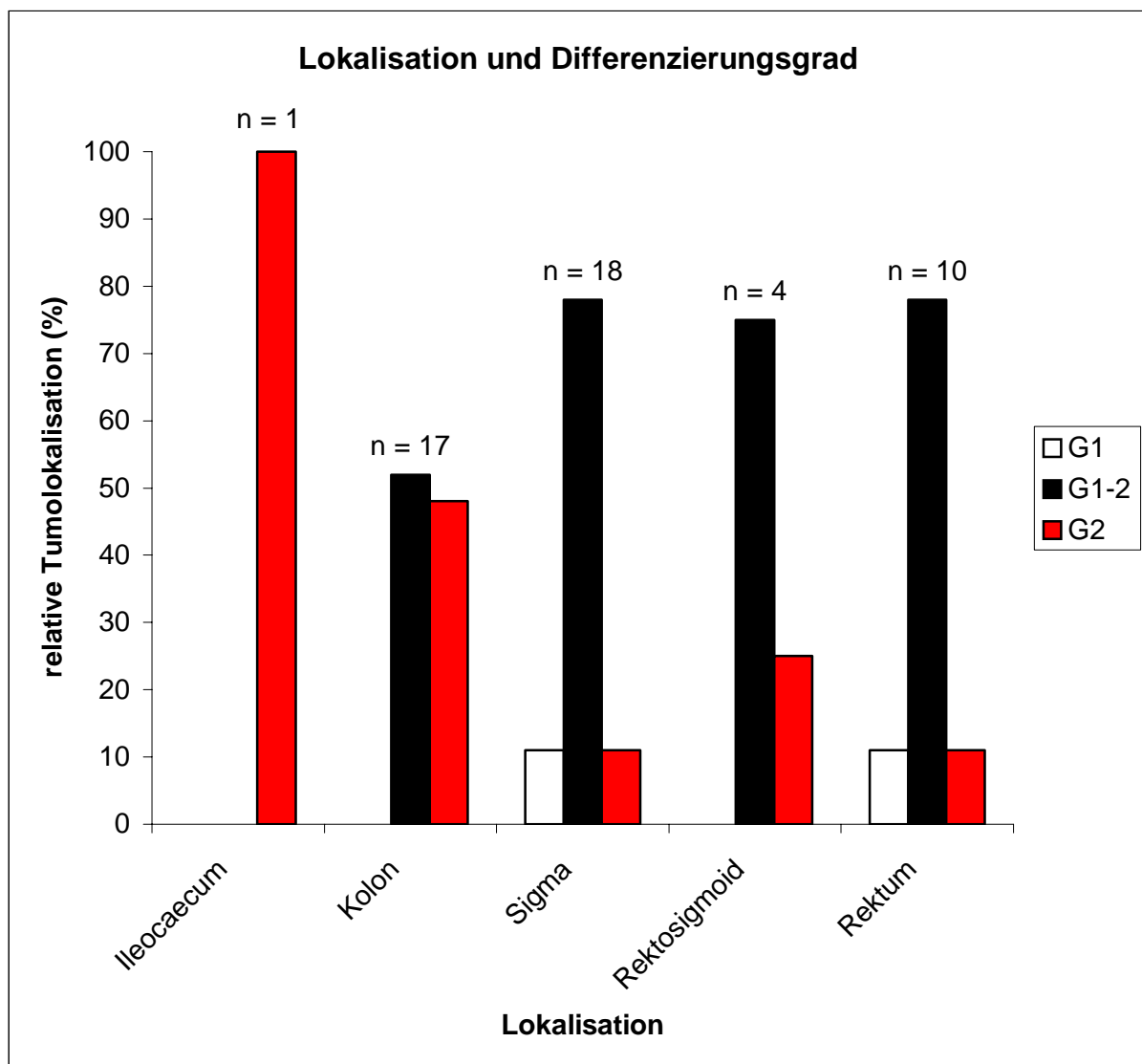


Abb. 7: Differenzierung der Tumoren in Korrelation zur Lokalisation

4.2.6. Daten zum klinischen Verlauf

In allen 50 Fällen waren Informationen zum weiteren klinischen Verlauf zugänglich (siehe Tab.19 im Anhang). 47 Patienten blieben im Verlauf Rezidiv- bzw. Metastasenfrei.

- Eine Patientin (laufende Nummer: 46) verstarb nach 72 Monaten, nachdem nach 48 Monaten ein Rezidiv im Ovar diagnostiziert worden war. Zum Zeitpunkt der Befunderhebung hatte sie sich im Stadium pT1N0M0,G1-2 befunden.
- Bei einer weiteren Patientin (laufende Nummer: 8) wurde 84 Monate nach der Erstdiagnose pT1N0M0,G1-2 eine lokale Rezidivbildung im Stadium pT1N0M0,G1-2 festgestellt. Sie wurde Rest-kolektomiert und zeigte bis Juni 2006 keine Rezidiv- bzw. Metastasenbildung.
- Der Patient mit der laufenden Nummer 7 hatte zum Zeitpunkt der primären Resektion bereits eine Lebermetastase entwickelt und befand sich damit im Stadium pT1N0M1,G1. Im Laufe des Nachbeobachtungszeitraumes von 12 Monaten entwickelte sie weder ein Rezidiv noch eine Metastase.
- Bei einer Patientin (laufende Nummer 14) wurde 22 Monate nach der Darmteilresektion (Stadium pT1N0M0),G2 ein tubuläres Adenom im Kolon ascendens endoskopisch polypektomiert. Dieses zeigte keine karzinogenen Strukturen. Bis zum Juni 2006 blieb sie frei von Rezidiven bzw. Metastasen.
- Der Patient mit der laufenden Nummer 50 starb 5 Monate nach Erstdiagnose eines pT1N0M0,G2 Tumors. Als Todesursache wurde ein akutes Kreislaufversagen mitgeteilt. Bis zum Tod waren keine Metastasen bzw. Rezidive diagnostiziert worden.

4.3. Auswertung der Standard- und immunhistochemischen Färbungen

Pro pT1 Tumor wurden durchschnittlich fünf Präparateblöcke systematisch in der H.E.-Färbung durchsucht. Schnitte, in denen Submucosa nahes Tumorgewebe zu sehen war, wurden mit den Antikörpern D2-40 und Anti Pan-Keratin gefärbt.

Die D2-40-Färbung stellte in 49 Fällen Lymphgefäße dar (Abb.8).

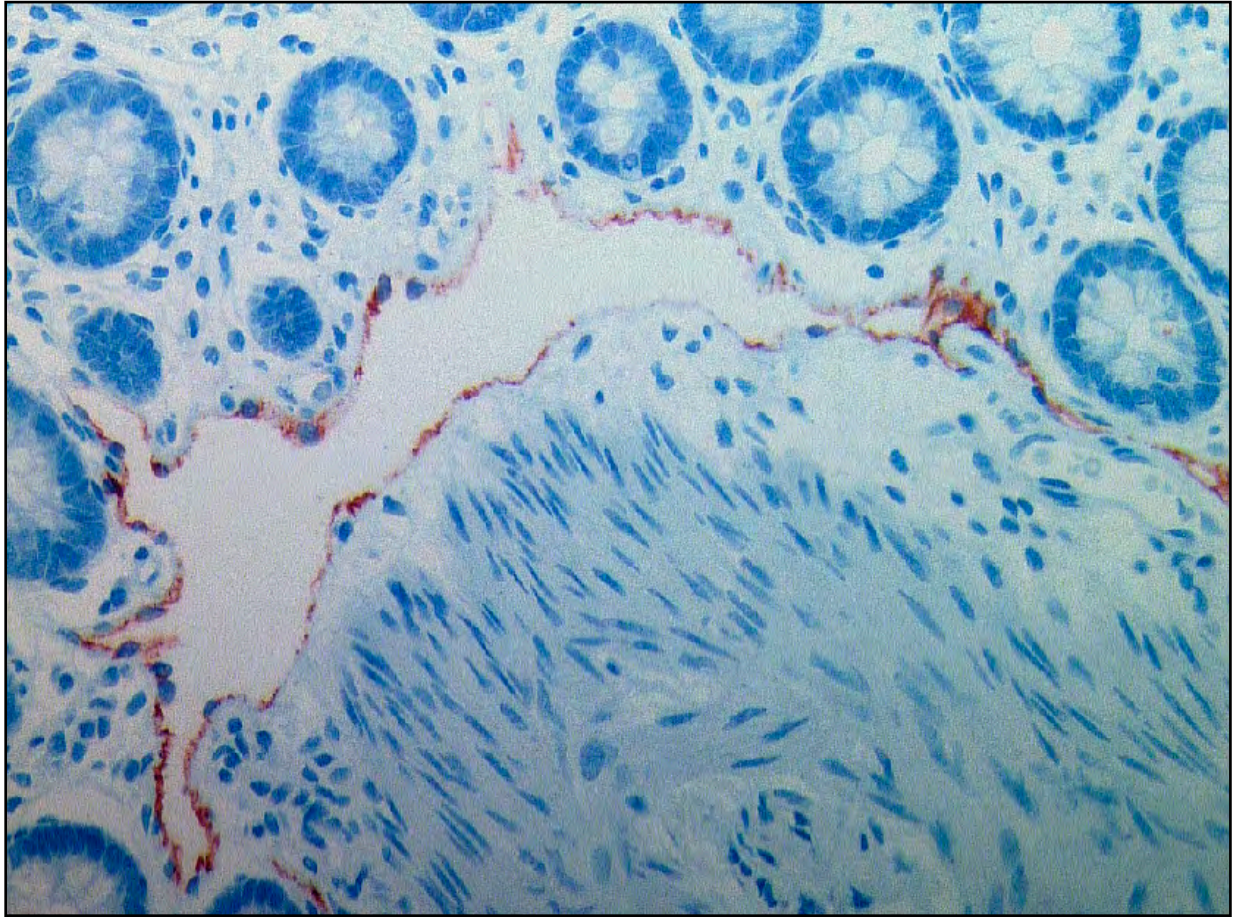


Abb.8: Lymphgefäße in der D2-40-Färbung, 200fache Vergrößerung

In einem Fall zeigte die mikroskopische Untersuchung der gefärbten Präparate keine Lymphgefäße (laufende Nummer 42, Befundnummer 2798). Die untersuchten Gewebeschnitte dieses Patienten entstammten oberflächlichen Polypektomie-Präparaten. Es ist davon auszugehen, dass diese Präparate nicht von Lymphgefäßen durchzogen werden, da auch nach mehrmaliger Färbung mit höheren Konzentrationen des Antikörpers keine Lymphgefäße dargestellt werden konnten.

Der D2-40 erwies sich somit als ausgesprochen effizienter Marker für die Markierung von Lymphgefäßen.

Um nachzuweisen, dass es sich bei Lymphgefäßinvasionen, welche durch die D2-40-Färbung dargestellt worden waren, um intraluminale Tumorzellen handelt, wurde ein folgender Stufenschnitt mit dem Anti Pan-Keratin Antikörper angefärbt (Abb.9).

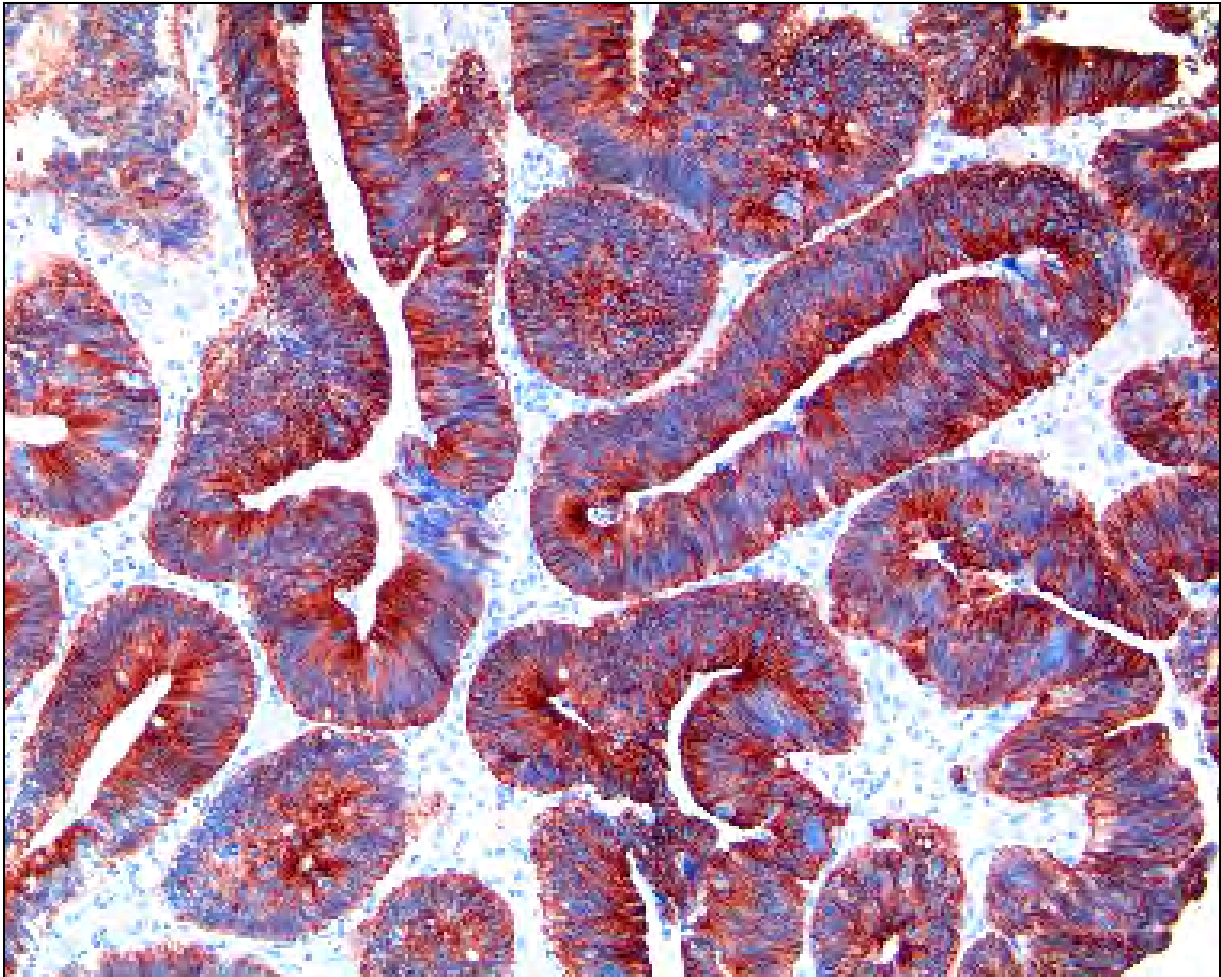


Abb.9: Mucosa-Ausschnitt in der Anti Pan-Keratin Antikörper-Färbung, Vergrößerung: 100fach

Betrachtete man exakt die gleiche Stelle des Gewebepreparates jeweils im D2-40- sowie im Anti Pan-Keratin Antikörper-gefärbten Schnitt, so konnte in drei Fällen eine Lymphangiosis karzinomatosa nachgewiesen werden (Abb.12-14). Einer der drei Fälle (laufende Nr.45) war dem Stadium pT1N0M0,G1-2 zugeordnet worden. Die anderen beiden Fälle (laufende Nummer 30 und 23) befanden sich zur Zeit der Befunderhebung im Tumorstadium pT1N1M0,G1-2. Hier waren in den bei der Operation mit entfernten und untersuchten Lymphknoten Tumorzellen nachgewiesen worden.

Alle drei Fälle mit positiver Lymphgefäßinvasion waren Darm-teilreseziert worden und zeigten im weiterem klinischem Verlauf keine Rezidiv bzw. Metastasenbildung.

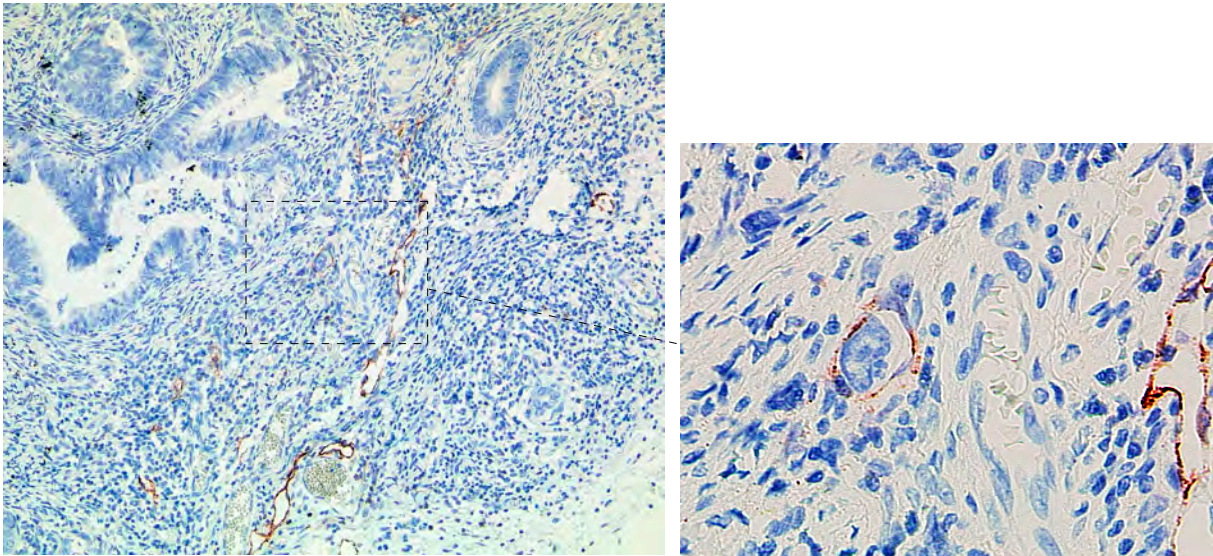


Abb.10A: Laufende Nr.45 in der D2-40-Färbung, Vergrößerung: 50fach (links) und 200fach (rechts)

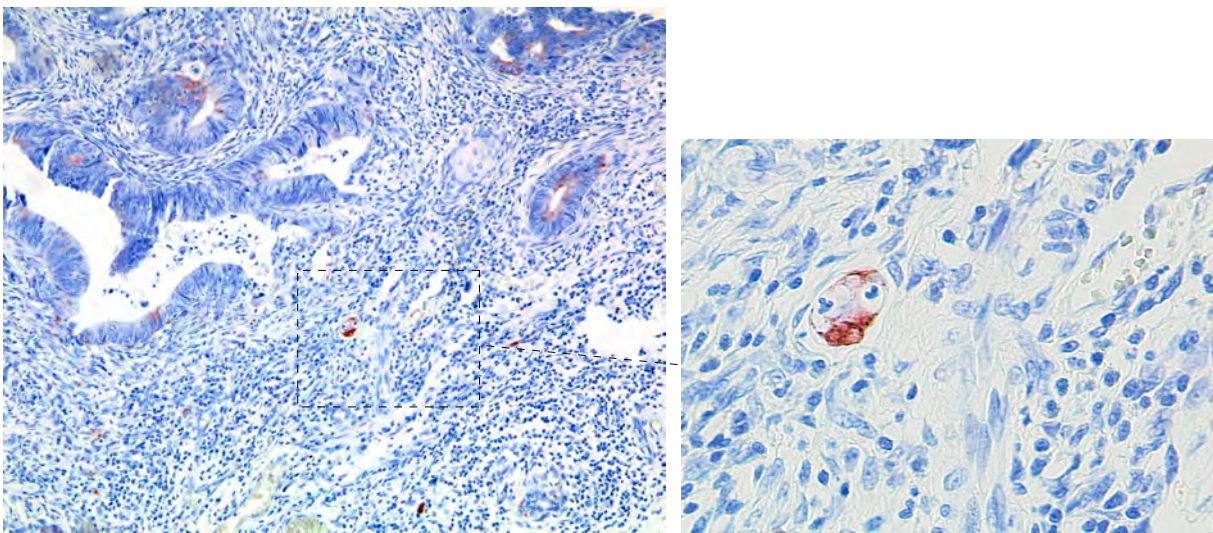


Abb.10B: Laufende Nr.45 in der Anti Pan-Keratin Antikörper-Färbung, Vergrößerung: 50fach (links) und 200fach (rechts)

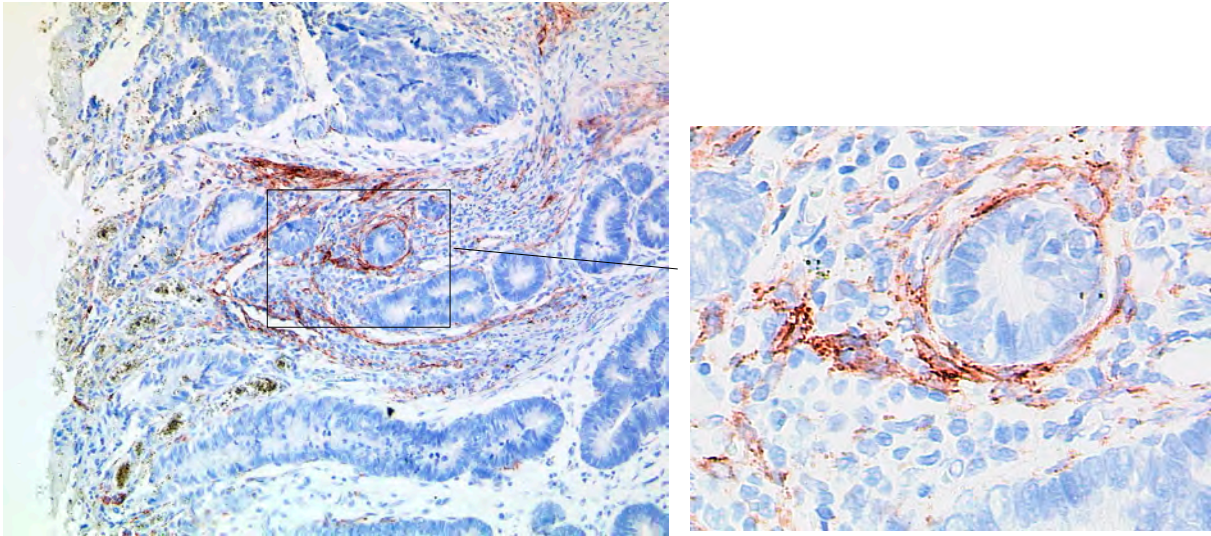


Abb.11: Laufende Nr.30 in der D2-40-Färbung, Vergrößerung: 50fach (links) und 200fach (rechts)

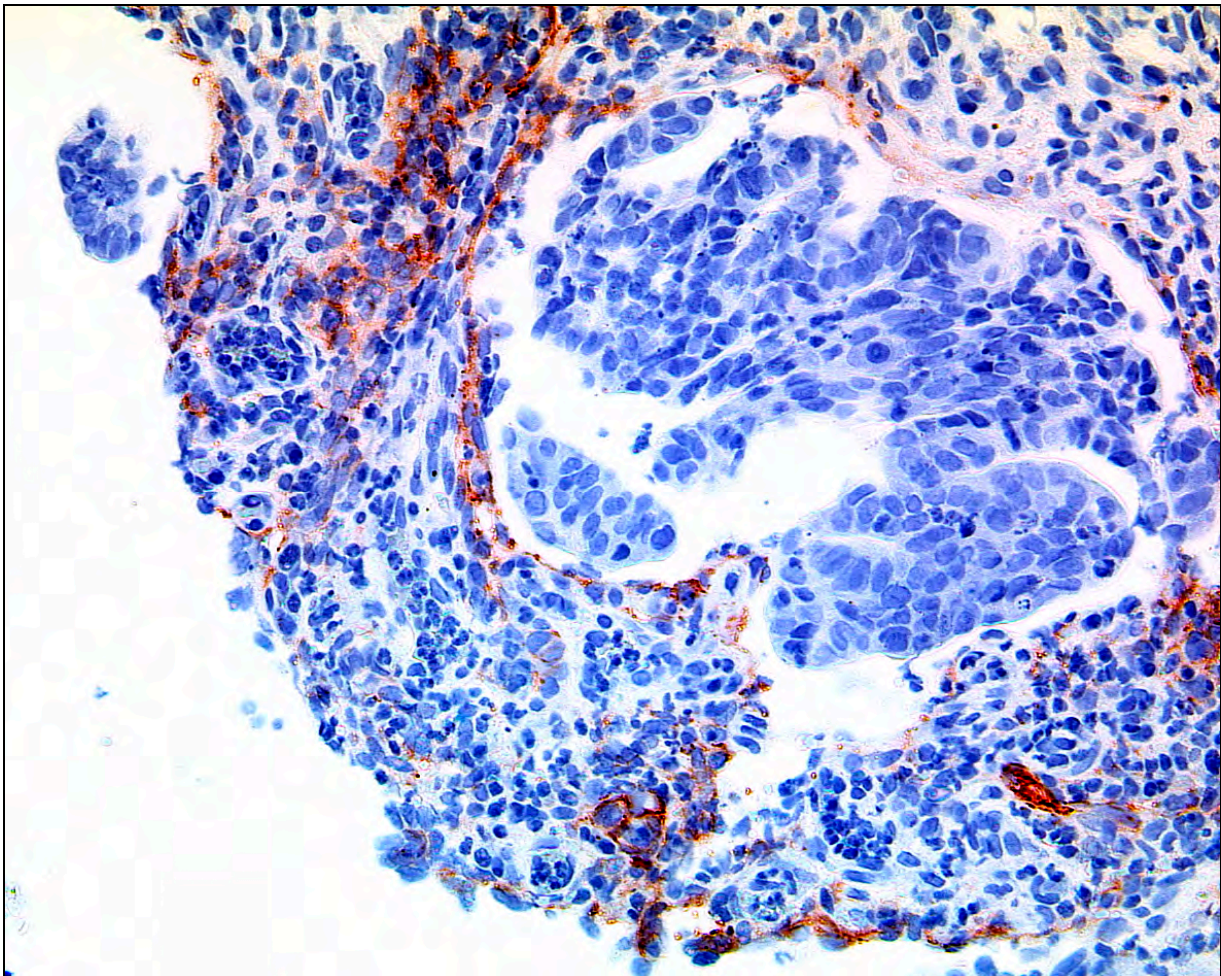


Abb.12: Laufende Nr.23 in der D2-40-Färbung, Vergrößerung: 50fach

4.5. Zusammenfassung der Ergebnisse der Studie

Die Ergebnisse dieser Studie lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Durch die Anfärbung der Gewebeproben von 50 Patienten mit den Lymphgefäß- und Epithelspezifischen immunhistochemischen Markern D2-40 und Anti Pan-Keratin Antikörper zeigte sich in drei Fällen eine Tumorzellinvasion kleinster Lymphgefäße im tumornahen Bereich.

Zwei der drei Fälle (laufende Nummer 23 und 30) war seitens des Pathologen in das Tumorstadium pT1N0,G1-2 eingeordnet worden. In den Gewebeschnitten des dritten Falles (laufende Nummer 45) waren in zwei von sieben untersuchten Lymphknoten Tumorzellinvasionen nachgewiesen worden. Dieser Patient wurde in das Tumorstadium pT1N1(2/7)M0, G1-2 eingeordnet.

Eine Korrelation zwischen der durch die Studie retrospektiv nachgewiesenen Tumorzellinvasion der feinen Lymphgefäße und einer Verschlechterung der Prognose durch das Auftreten von Tumorrezidiven bzw. von Metastasen des Primärtumors konnte nicht nachgewiesen werden, da keiner der drei oben genannten Patienten (bei welchen eine Lymphgefäßinvasion in der immunhistochemischen Färbung dargestellt werden konnte) ein Rezidiv bzw. eine Metastase im Nachbeobachtungszeitraum bildete.

Bei den zwei Patienten, die ein Rezidiv entwickelten (ein Kolonrezidiv bei der laufenden Nummern 8, ein Rezidiv im ovariellen Gewebe bei der laufenden Nummer 46), konnte dagegen retrospektiv keine Tumorzellinvasion der Lymphgefäße nachgewiesen werden; beide waren initial als pT1N0 befundet worden (Tab.1).

Eine Korrelation zwischen der Lymphgefäßinvasion und einem erhöhten Risiko einer Rezidiv- bzw. Metastasenbildung konnte an unserem Patientenkollektiv zumindest für den bisherigen Nachbeobachtungszeitraum nicht nachgewiesen werden.

Vergleicht man die operativen Verfahren, welcher sich die Patienten unserer Studie unterzogen hatten, so zeigt sich im Hinblick auf die Rezidiv- bzw. Metastasenrate eine Inzidenz von 2 der 50 Darm-teilresezierten Fälle. Bei den Patienten die ausschließlich endoskopisch polypektomiert wurden, traten keine Rezidive oder Metastasen auf.

Mithin konnte die These, dass die Rezidiv- bzw. Metastasenrate nach einer Polypektomie höher ist als nach einer radikulären Darm-Teilresektion, durch die Ergebnisse dieser Studie nicht bestätigt werden. Um dies belegen zu können, hätten diejenigen Patienten, bei denen der endoskopischen Polypentfernung mit dem Befund eines pT1N0M0,G1-2 kolorektalen Adenokarzinoms keine Darm-Teilresektion gefolgt war, eine höhere Tumorweitmanifestation zeigen müssen. Eine solche zeigte sich jedoch im weiteren Verlauf (Follow-up von 5, 8 und 10 Jahren) der drei Patienten nicht. Allerdings ist diese Untergruppe auch zahlenmäßig klein.

5. DISKUSSION

Wie bereits in der Einleitung erläutert, waren 26 der 50 untersuchten Patienten Frauen, 24 Männer. Im Hinblick auf die Inzidenzrate stellte sich keine signifikante, geschlechtsspezifische Häufung dar.

Ebenso ließ sich im Vergleich des Inzidenzalters kein Unterschied zwischen den Geschlechtern herausfiltern. Männliche Teilnehmer der Studie erkrankten durchschnittlich mit 66,9 Jahren ($\pm 1,98$ Jahre), weibliche Teilnehmer der Studie erkrankten durchschnittlich mit 65,7 Jahren ($\pm 1,97$ Jahre). Somit ergibt sich zwischen den beiden Geschlechtern kein signifikanter Unterschied im Erkrankungsalter ($p = 0,66$; $p \geq 0,05$).

Studien, welche sich mit der Pathogenese kolorektaler Karzinome beschäftigen, machen äquivalente Angaben bezüglich des mittleren Prävalenzalters, sowie bezüglich der prozentualen Geschlechterverteilung (Deinlein et al., 2003; Nascimbeni et al., 2002).

Die Rezidiv- bzw. Metastasenraten von Patienten mit kolorektalen Karzinomen zeigen in Bezug auf die Stadieneinteilung große Unterschiede. Ein im pT1-Stadium diagnostiziertes kolorektales Karzinom bildet statistisch betrachtet in 4% der Fälle Sekundärmanifestationen aus. Diese Rate ist deutlich geringer als für ein in das pT2-Stadium eingeordnetes kolorektales Karzinom, welches in 12% der Fälle Sekundärmanifestationen ausbildet. Noch schlechter fällt die Prognose eines zur Primärmanifestation ins Stadium pT3 eingeteiltes, kolorektales Karzinoms aus. Ein solcher Tumor bildet in 60% der Fälle eine Sekundärmanifestation aus (Blumberg et al., 1999; Deinlein et al., 2003; Sitzler et al., 1997).

Das von uns untersuchte Patientenkollektiv, welches ausschließlich aus Patienten bestand, bei denen ein kolorektales Karzinom im pT1 Stadium diagnostiziert worden war, zeigte, in Übereinstimmung mit anderen untersuchten Patientengruppen, eine Zweitmanifestationsrate von 4% (laufende Nummern 8 und 46).

Es war überlegt worden, ob das Risiko einer Abwanderung der Zellen zur Zeit der Befunderhebung am OP-Präparat pathomorphologisch hätte belegt bzw. vermutet werden können, ob sich also bei Patienten, welche später eine Zweitmanifestation zeigten, histologische Merkmale als Risikoindikator hätten feststellen lassen können. Diesbezüglich erläutern die folgenden Abschnitte gängige Kriterien, mit denen kolorektale Karzinome heutzutage in der pathologischen Befunderhebung klassifiziert und eingeteilt werden.

Epidemiologische Studien haben aufgezeigt, dass kolorektale Karzinome in bestimmten Kolonbereichen gehäuft auftreten. Analog der Untersuchungen von Nürnberg et al. (2005) entstammten 32 von 50 Fälle der von uns untersuchten Gewebeproben aus dem rektosigmoidalen Bereich. Eine Korrelation zwischen der Tumorlokalisation und der Metastasenrate konnte in unserer sowie in einer vergleichbaren Studie aus Italien (Nascimbeni et al., 2002) nicht nachgewiesen werden.

Um das Risiko der Metastasenbildung noch genauer einzugrenzen, kann der Differenzierungsgrad der Tumorzellen berücksichtigt werden. Hier bedient man sich des Grading-Systems nach Broder (Broder AC., 1925) und teilt die Zellen nach abfallendem Differenzierungsgrad in G1-4 ein. G1 und G2 zählen mit gut bis mäßig differenzierten Tumorzellen zu den sogenannten Low-Risk Tumoren, G3 und G4 mit schlecht bis undifferenzierten Zellen zu den High-Risk Tumoren.

Der Differenzierungsstatus der Tumorzellen in den untersuchten Gewebeproben wurde in allen Befunden angegeben. In 34 von 50 Fällen des untersuchten Patientengutes zeigten die Präparate gut bis mäßig differenzierte Tumorzellen (G1-2). In 13 von 50 Fällen lagen ausschließlich mäßig differenzierte (G2), in 3 von 50 Fällen durchweg gut differenzierte (G1) Tumorzellen. Schlecht und undifferenzierte (G3-4) Tumorzellen wurden in unseren Präparaten nicht gesehen.

Der Vergleich von Tumorlokalisation und Differenzierungsgrad (Tab.2 und Abb.7) zeigte, dass die Tumore, welche in weiter proximal gelegenen Darmbereichen reseziert worden waren, gehäuft mäßiger differenziert waren (G2), als Tumore aus dem rektosigmoidalen Bereich, also den weiter distal gelegenen Darmabschnitten. Die Tumorzellen aus den rektosigmoidalen Darmbereichen zeigten demnach einen höheren Zell-

Differenzierungsgrad (G1 bzw. G1-G2). Diese Verteilung geht mit der typischen klinischen Symptomatik einher, welche die Patienten mit kolorektalen Karzinomen aufzeigen. So sind typische Symptome von distal gelegenen kolorektalen Karzinomen beispielsweise Stenosen, und die daraus folgende Obstipation, Schmerzen, Durchfall und Gewichtsverlust (Corsale et al., 2003; D'Souza et al., 2003; Herold, 2006; Herranz et al., 2004; Stief et al., 2002). Patienten mit derartiger Symptomatik begeben sich frühzeitig in ärztliche Behandlung und die ursächlichen kolorektalen Karzinome können dadurch frühzeitig diagnostiziert und gegebenenfalls reseziert werden.

Patienten mit kolorektalen Karzinomen aus proximal gelegenen Darmabschnitten (Ileocaecum/Kolon) zeigen häufig weniger gravierende und weniger akute Symptome, wie beispielsweise Meteorismus oder geringfügige Blutbeimengungen. Diese werden von den Patienten seltener oder erst später bemerkt, so dass tendenziell auch erst später ein Arzt konsultiert wird (Kanellos et al., 2004). Wird der Tumor im Rahmen der Therapie dann reseziert, befinden sich die Tumore daher eher in einem mäßig bis undifferenzierten Stadium und und/oder einer fortgeschrittenen Invasionstiefe (z.B. G3/G4 bzw. pT3, pT4).

Bezüglich ihrer Metastasenrate zeigen kolorektale T1-Tumore im G1 oder G2 Stadium keine Unterschiede. Das Risiko der lymphogenen Metastasierung liegt in beiden Stadien bei 4%. Tumore, welche im Stadium G3 oder G4 entfernt werden, zeigen ein höheres Risiko von durchschnittlich 14%, lymphogene Metastasen zu bilden (Deinlein et al., 2003; Nascimbeni et al., 2002).

Als Kriterium bezüglich des Metastasierungsrisikos früher kolorektaler Karzinome etabliert sich zunehmend eine genaue Angabe der Tumordinfiltrationstiefe in die Submucosa des Kolons. Dazu wird die Submucosa in ein oberes (sm1), ein mittleres (sm2) und ein unteres Drittel (sm3) eingeteilt (Kudo, 1993). Mit steigender Infiltrationstiefe ergibt sich ein ebenfalls steigendes Risiko für eine lymphogene Metastasierung. Bei einer Infiltrationstiefe bis sm1 ergibt sich ein Risiko von 0%, bei sm2 von 10% und bei sm3 von 25% (Deinlein et al., 2003; Kikutchi et al., 1995).

Das sm- und das G-System können theoretisch noch miteinander verknüpft werden, wodurch sich beispielsweise für eine Tumorzellinvasion bis in den sm1-Bereich in Kombination mit schlecht bis undifferenzierten G3-4 Zellen ein Risiko zur

Metastasenentstehung von 3% ergibt (Nascimbeni et al., 2002). Die pathologischen Befunde, der von uns untersuchten Patienten gaben keine Auskunft über die Tumorzellinvasion der Submucosa sm1-3. Diese Einteilung ist aber, wie bereits erwähnt, neu und noch nicht Teil der gängigen pathologischen Befundung.

Ein weiterer wichtiger Bestandteil der pathologischen Untersuchung ist die Beurteilung der Resektionsränder. Man spricht von einer „Entfernung im Gesunden“, wenn der chirurgische Absetzungsrand des entfernten Gewebes keine Tumorzellen aufweist und der Tumor im Zuge einer Polypektomie mit einem Sicherheitsabstand von >3cm entfernt wurde. Sind diese Kriterien erfüllt, kann der Pathologe eine sogenannte R0-Resektion bestätigen. Andernfalls ist ein erneuter operativer Eingriff im Sinne einer Nachresektion zu empfehlen. Entspricht das nicht „im Gesunden“ entfernte Präparat einer endoskopischen Polypektomie, so folgt üblicherweise eine Darm-Teilresektion im Sinne einer „offenen Polypektomie“. Eine R0-Resektion wird bei dieser mit einem chirurgischen Absetzungsrand von mindestens 3 cm vom Tumorrand ausgehend durchgeführt und sichert so im größeren Maße als die endoskopische Polypektomie die Entfernung „im Gesunden“ (Kurzgefasste Interdisziplinäre Leitlinien 2004, Deutsche Krebsgesellschaft e.V.).

Natürlich wird auch die Gewebeprobe der chirurgischen Resektion von pathologischer Seite erneut mikroskopisch überprüft.

Eine solche Situation lag in dieser Studie bei 20 der 50 Patienten vor. Diese waren zunächst endoskopisch polypektomiert worden. Der pathologische Befund gab in 17 Fällen den Nachweis von Tumorzellen im Absetzungsrand des entfernten Karzinoms, also keine Entfernung „im Gesunden“, sondern eine R1 Resektion an. Bei diesen 17 Patienten folgte auf die Polypektomie eine radikuläre Resektion des betroffenen Darmabschnittes im Zuge einer Laparotomie. Die anschließende pathologische Untersuchung bestätigte in allen Fällen eine R0-Resektion.

In drei der 20 Fälle gab der pathologische Befund bzw. dessen Interpretation seitens des behandelnden Arztes keinen Anlass zur weiteren Intervention. Keiner dieser Patienten entwickelte im Folgenden eine Zweitmanifestation des Tumors.

Zahlreiche Studien haben sich in den letzten Jahren mit der Frage auseinandergesetzt, ob die endoskopische Polypektomie die adäquate Therapie kolorektaler

Adenokarzinome im pT1N0M0-Stadium ist, oder ob sicherheitshalber schon in diesem frühem Tumorstadium zur radikalen Darm-Teilresektion geraten werden sollte. Diese Studien verglichen die Metastasenrate im Bezug auf die beiden chirurgischen Vorgehensweisen miteinander.

So zeigte eine 52-monatige Follow-up Studie von Garcia-Aguilar et al. (2000), dass 18% der Patienten mit pT1 Tumoren (n=55) und 37% der Patienten mit pT2 Tumoren (n=27) Rezidive entwickelten, nachdem sie ausschließlich endoskopisch polypektomiert worden waren.

Nascimbeni et al. (2002) untersuchten 353 Patienten, bei denen ein pT1 Adenokarzinom diagnostiziert worden war. Alle Patienten wurden Darm-teilreseziert, so dass auch die ebenfalls entnommenen Lymphknoten auf eine möglichen Tumorzellinvasion untersucht werden konnten. 46 Patienten, wiesen eine Lymphknotenmetastase auf. Die Studie kommt zum Ergebnis, dass für die meisten der Patienten eine Polypentfernung zwar ausgereicht hätte, eine adäquate Beurteilung des Lymphknotenstatus so aber nicht hätte gewährleistet werden können. Die 13%, bei denen das Adenokarzinom ohne Darm-Teilresektion nicht „im Gesunden“ entfernt worden wäre, hätten durch einen Polypektomie nicht herausgefiltert werden können, da bei dieser keine Lymphadenektomie erfolgen kann.

Sicherheitshalber sollte, diesen Studien zur Folge, auch schon bei sogenannten frühen kolorektalen Adenokarzinomen, wie denen im pT1 Stadium, eine Darm-Teilresektion der endoskopischen Polypektomie vorgezogen werden.

In der von uns durchgeführten Studie wurde eine Lymphknotenbeteiligung bei 2 Patienten nachgewiesen. Beide waren Darm-teilreseziert worden. Eine endoskopische Polypabtragung hätte diese Lymphknotenbeteiligung nicht nachweisen können bzw. die Ausbreitung der Tumorzellen über den bereits betroffenen Lymphknoten hinaus, nicht verhindern können. Wären beide Patienten lediglich endoskopisch polypektomiert worden, hätte ein erhöhtes Risiko für eine Tumorzellausbreitung im Körper und für die Entstehung eines Rezidivs bzw. einer Fernmetastasierung bestanden, welche so nicht erfolgen konnte.

In Analogie zu den Ergebnissen von Garcia-Aguilar et al. (2000), sowie Nascimbeni et al. (2002) wäre davon auszugehen, dass die Patienten unserer Studie, welche

ausschließlich polypektomiert worden waren, zumindest ein höheres Risiko einer Rezidivmanifestation gehabt hätten.

Wie schon erwähnt, gab es bei der von uns untersuchten Patientenkohorte keine Tumorweitmanifestation bei den Patienten, welche ausschließlich polypektomiert worden waren.

Die genaue Akteneinsicht zeigte, dass bei zweien der drei ausschließlich endoskopisch behandelten Patienten eine Beurteilung bezüglich der Entfernung „im Gesunden“, nicht möglich war. Die pathologischen Befunde beschränkten sich auf die Aussage: „Eine vollständige Entfernung der Läsion ist nicht gewährleistet“. Bei einem Patienten wurde die Entfernung „im Gesunden“ im pathologischen Befund bestätigt.

Bezüglich des Lymphknotenstatus konnten alle drei Fälle nicht beurteilt werden, da Lymphknoten bei der endoskopischen Polypabtragung nicht entnommen worden waren. Zwei wichtige Kriterien (in zwei Fällen der R0-Status, in allen drei Fällen der Lymphknotenstatus) in der Beurteilung des Karzinom-Stadiums und dem daraus folgenden Risiko der Metastasen- bzw. Rezidivbildung, konnten demnach bei diesen Fällen nicht erhoben werden. Trotzdem wurde keine anschließende Darm-Teilresektion durchgeführt.

Betrachtet man das Inzidenzalter der drei Patienten, so zeigt sich, dass einer der Patienten (laufende Nummer 49) 74 Jahre, und ein anderer Patient (laufende Nummer 13) 88 Jahre alt waren. Eine radikale Darm-Teilresektion hätte, dem Alter der Patienten entsprechend, eine risikoreichere Operation dargestellt.

Die intra- bzw. postoperativen Komplikationen können dabei theoretisch von lokalen Entzündungen, einer Peritonitis, einer systemischen Sepsis, Kreislaufdekompensation bis hin zum Tode des Patienten reichen (Degiuli et al., 2004; Hildebrandt et al., 2001). Derartige Komplikationsrisiken erhöhen sich mit steigendem Alter der Patienten um ein Vielfaches (Onder et al., 2004).

Das hohe Alter der Patienten könnte der Grund für die Entscheidung gegen die Operation und somit für die Inkaufnahme des 4%igen Risikos eine Metastase zu bilden (Blumberg et al., 1999; Deinlein et al., 2003; Sitzler et al., 1997), gewesen sein.

Der dritte Patient (laufende Nummer 43) war zur Zeit der Diagnosestellung 62 Jahre alt. Die Akteneinsicht zeigt, dass die behandelnden Ärzte sich in diesem Fall gegen eine Darm-Teilresektion entschieden haben, weil der Patient an einer bekannten arteriellen

Verschlusskrankheit litt und sich das Risiko postoperativer Komplikationen bei einer offenen Resektion um ein Vielfaches erhöht hätte.

Derartige Gründe für die Entscheidung der behandelnden Ärzte sind durchaus nachvollziehbar, insbesondere deshalb, weil die fachärztliche Beurteilung seitens des Pathologen für die Entscheidungsfindung sicherlich wegweisend war.

In den letzten Jahren gewinnt die Rolle der Lymphgefäßinvasionen und den daraus folgenden Auswirkungen auf die Tumorausbreitung zunehmend an Bedeutung.

Neben der bereits angesprochenen detaillierteren Aufgliederung der Submucosa in drei Drittel (sm1-3), geht das Bestreben vieler Studiengruppen dahin, auch die Beschreibung kleinster Lymphgefäßinvasionen mit in die pathologische Befundung einzubeziehen, und die übliche Einteilung in High-risk und Low-risk Tumore, um diesen Aspekt zu erweitern (Kikuchi et al., 1995; Nascimbeni et al., 2002; Stolte et al., 1992).

Bisher werden Gewebeproben kolorektaler Karzinome zu Low-risk Fällen gezählt, wenn folgenden Kriterien erfüllt sind (Hermanek et al., 1978; Jass et al., 1986):

- G1-2 differenzierte Tumorzellen
- Keine Lymphgefäßeinbrüche
- R0-Resektion

High-risk Fälle liegen vor bei:

- G3-4 differenzierten Tumorzellen
- Lymphgefäßeinbrüchen
- R1-Resektion

Deinlein et al. (2003) schlagen vor, die sm-Einteilung nach Kudo (1993) in die Low- bzw. High-risk Einteilung mit einzubeziehen (Deinlein et al., 2003). Demnach würde eine Tiefeninfiltration bis in das mittlere Drittel der Submucosa (sm1-2) zur Low-risk Gruppe zählen. Kikuchi et al. (1995) konnten zeigen, dass erst die Tumorzellinvasion bis in das untere Drittel (sm3) mit einem erhöhtem Risiko der lymphogenen Metastasierung einhergeht, da feinste Lymphgefäße in dieser Submucosatiefe vermehrt vorkommen. Die Infiltration bis in das untere Drittel der Submucosa (sm3) würde demnach zur High-risk Tumorgruppe zählen (Kikuchi et al., 1995). Eine präzisere Beurteilung des Lymphgefäßstatus und damit einer möglichen lymphogenen Metastasierung könnte

demzufolge durch eine Erweiterung der Low-/High-risk Klassifizierung um die sm-Einteilung gewährleistet werden.

Diese von Kikuchi et al. (1995), Nascimbeni et al. (2002) und Stolte et al. (1992) geforderte Beurteilung der Lymphgefäße der Submucosa stellt sich bisher jedoch als schwierig dar, da die dafür zur Verfügung stehende konventionelle H.E.-Färbung, Lymphgefäße nicht spezifisch anfärbt (Kahn und Marks, 2002).

Die von uns durchgeführte Studie versucht eine Beurteilung der feinen Lymphgefäße auch im Bereich der Submucosa kolorektaler Adenokarzinome zu erleichtern, indem die Effizienz monoklonaler Antikörper zur Darstellung von Lymphgefäßen und Tumorzellen untersucht wurde.

Der monoklonale Antikörper D2-40 konnte bereits in anderen Studien (Fogt et al., 2004b; Kahn und Marks, 2002) als spezifischer Marker für die Anfärbung und Darstellung feinsten intramuraler Lymphgefäße erfolgreich eingesetzt werden. Diese Studie versuchte mit Hilfe der D2-40-Färbung eine Lymphgefäß- bzw. Lymphknoteninvasionen retrospektiv in Gewebeproben kolorektaler Adenokarzinome darzustellen, in denen ursprünglich mit der konventionellen H.E.-Färbung keine Lymphgefäßbeteiligung nachgewiesen worden war, also Tumore im Stadium pT1N0. Um die einzelnen Tumorzellen in den Gewebeproben besser beurteilen zu können, fertigten wir eine zweite Untersuchungsreihe mit einem weiteren monoklonalem Antikörper, dem Anti Pan-Keratin Antikörper an. Dieser hat sich in der Markierung zytokeratiner Epitope von Tumorzellen etabliert (Moll, 1998).

Hintergrund der Fragestellung, ist die Tatsache, dass statistisch gesehen 4% der Patienten, die, obwohl sie keine Lymphknotenbeteiligung sowie keine anderen Hinweise auf eine Ausbreitung des Primärtumors zur Zeit des Erstbefundes ihres Adenokarzinoms zeigen, ein Rezidiv oder eine Metastase ausbilden.

Die Vermutung, dass eine Lymphgefäßbeteiligung zur Zeit der Befunderhebung durchaus vorlag, aber übersehen wurde, da die Färbemethode nicht spezifisch genug war, liegt nahe.

Diese Studie versuchte herauszufinden, ob mit Hilfe der D2-40-Färbung dieses Defizit an färberischer Spezifität zu schließen ist.

Eine genauere Aussage zur Dignität des Tumors, im Sinne der sm-Einteilung, wäre somit möglich und könnte die Empfehlung seitens des Pathologen, bezüglich eines möglicherweise notwendigen erneuten chirurgischen Vorgehens, erleichtern.

Der Fragestellung folgend wurden die Gewebeproben der 50 Patienten erneut geschnitten und mit D2-40, sowie mit Anti Pan-Keratin Antikörper gefärbt. Die Darstellung und Beurteilung feinsten Lymphgefäße im tumornahen Mucosa-Bereich der Adenokarzinome, wurde durch die Verwendung des D2-40 möglich.

Durch die systematische Durchsichtung der Präparate konnte bei drei der 50 Fälle eine Invasion in die Lymphgefäße nachgewiesen werden. Hier ist anzumerken, dass eine Berücksichtigung der Infiltrationstiefe in die Submucosa nicht Teil der Untersuchung war. Unser Augenmerk galt der Darstellung der Lymphgefäße, nicht jedoch der Beurteilung der Tumordinfiltrationstiefe in die Submucosa, wie sie von Kudo (1993) vollzogen worden war.

Der These folgend, dass diese drei Patienten im weiteren Lebenslauf eher ein Rezidiv bzw. eine Metastase ausbilden würden als die übrigen 47 Fälle (bei denen die Lymphgefäße keine Invasion zeigten), wurde im Sinne einer Follow-up Studie telefonisch oder gegebenenfalls schriftlich der aktuelle Gesundheitszustand der Patienten recherchiert. Es stellte sich heraus, dass innerhalb eines Zeitraumes von 12 bis 120 Monaten keiner dieser drei Patienten eine Zweitmanifestation des Tumors entwickelt hatte.

Eine Korrelation zwischen der durch die spezifische D2-40-Färbung dargestellten Lymphgefäßinvasion und einer Tumorzweitmanifestation konnte zumindest für den bisher überwiegend kurzen Nachbeobachtungszeitraum nicht belegt werden.

Auch hatten zwei der 47 Patienten, bei welchen mittels des D2-40 keine Lymphgefäßinvasion hatte nachgewiesen werden können, eine Tumorzweitmanifestation entwickelt (laufende Nummer 8 und 46).

Bisher konnte somit nicht schlüssig bewiesen werden, dass durch den Einsatz der spezifischen Marker D2-40 und Anti Pan-Keratin Antikörper ein diagnostischer Zugewinn im Hinblick auf eine prognostische Aussage zu erzielen ist.

Die These, dass eine endoskopische Polypektomie mit einem höherem Risiko der Bildung von Rezidiven bzw. Metastasen verbunden ist als eine Darm-Teilresektion, da hier mit größerer Wahrscheinlichkeit „im Gesunden“ reseziert werden kann (Brodsky et al., 1992; Garcia-Aguilar et al., 2000), ließ sich durch unsere Studie nicht belegen. Diese Korrelation hätte nur dann aufgezeigt werden können, wenn die Zweitmanifestationsrate der ausschließlich endoskopisch versorgten Patienten über derjenigen der Darm-teilresezierten Patienten gelegen hätte. Die Follow-up Studie ergab jedoch keine Zweitmanifestation bei den ausschließlich endoskopisch polypektomierten Patienten und drei Zweitmanifestationen bei den Darm-teilresezierten Patienten, wobei die Follow-up Dauer nach beiden Operationsverfahren keinen signifikanten Unterschied aufweist.

Die Spezifität der D2-40-Färbung, feinste Lymphgefäße selektiv sichtbar zu machen, wie es in Studien anderer Arbeitsgruppen (Fogt et al., 2004b; Kahn und Marks, 2002; Kaiserling, 2004) dargestellt wurde, bestätigte sich in unseren Untersuchungen (Abb.8).

Der D2-40 stellte sich in unseren Untersuchungen derart spezifisch dar, dass auch wir analog der Studie von Kahn und Marks (2002), zu dem Ergebnis kamen, dass man bei bestimmten Fragestellungen die pathologische Untersuchung von Gewebeproben kolorektaler Adenokarzinome in Zukunft routinemäßig um den Einsatz von D2-40 erweitern sollte.

In einer Studie färbten Kahn und Marks (2002) 50 Brustkrebs-Gewebepräparate sowohl mit D2-40, wie auch mit H.E. an.

Die D2-40-Färbung zeigte auf, dass 18% der in der H.E.-Färbung Lymphknoten-negativen Fälle falsch-negativ waren. Des Weiteren kamen Kahn und Marks (2002) zu dem Ergebnis, dass 4%, der in der H.E.-Färbung Lymphknoten-positiven Fälle falsch-positiv waren. Die Studie von Kahn und Marks (2002) verdeutlichte, welche Tragweite die unzureichende oder sogar fehlerhafte Beurteilung des Lymphknotenstatus nach sich ziehen kann.

Um die Unterscheidung zwischen Tumorzelle und beispielsweise eingewanderten Entzündungszellen zu erleichtern, färbten wir die Präparate, welche in der D2-40-Färbung eine Lymphgefäßinvasion gezeigt hatten, zusätzlich mit dem Anti Pan-Keratin

Antikörper. Die Anti Pan-Keratin Antikörper-Färbung bestätigte die drei Lymphgefäßinvasion positiven Fälle der D2-40-Färbung.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchungen der vorliegenden Studie ergab, dass mittels der durchgeführten immunhistochemischen Färbungen mit dem Antikörper D2-40 feinste Lymphgefäße von pT1 Adenokarzinomen dargestellt werden konnten.

Die These, dass es in eben diesen oberflächlich gelegenen Lymphgefäßen zu einer Tumorzellinvasion kommen kann, konnte in drei Fällen bestätigt werden.

Eine Korrelation zwischen dieser retrospektiv nachgewiesenen Tumorzellinvasion der feinen Lymphgefäße und einer Verschlechterung der Prognose durch das Auftreten von Tumorrezidiven bzw. von Metastasen des Primärtumors konnte bei einer Follow-up Dauer von 12 bis 120 Monaten nicht belegt werden, da keiner der drei oben genannten Patienten (bei welchen eine Lymphgefäßinvasion in der immunhistochemischen Färbung dargestellt werden konnte) ein Rezidiv bzw. eine Metastase im Nachbeobachtungszeitraum bildete.

Bei einer länger bestehenden Follow-up Dauer wäre die Korrelation von Lymphgefäßinvasion und Metastasen- bzw. Rezidivrate wahrscheinlicher. Zur Darstellung einer Lymphangiosis karzinomatosa könnte die histopathologische Untersuchung kolorektaler Adenokarzinome in ausgesuchten Fällen durch die immunhistochemische Färbung mit dem lymphgefäßspezifischen Antikörper D2-40 ergänzt werden.

Zwei Patienten dieser Studie (Laufende Nummern 8 und 46) entwickelten im Laufe des Nachbeobachtungszeitraumes von 48 bzw. 84 Monaten ein Rezidiv. Beide waren Darmteilreseziert worden (Tab.1).

Nach der ausschließlichen endoskopischen Abtragung eines Tumors, welche ohne anschließende Nachresektion in drei Fällen (Laufende Nummern 13, 43 und 49) erfolgt war, trat in keinem Fall eine Metastase oder ein Rezidiv auf (Tab.1).

Die These, dass die Rezidiv- bzw. Metastasenrate nach einer Polypektomie höher ist als nach einer radikulären Darm-Teilresektion, konnte somit durch die Ergebnisse dieser Studie nicht bestätigt werden.

Auch hier wäre ein Unterschied bezüglich der postoperativen Verläufe bei einer längeren Nachbeobachtungszeit denkbar.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Aarnio M, Mecklin JP, Aaltonen LA, Nystrom-Lahti M, Jarvinen HJ. Lifetime risk of different cancer in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) syndrome. *Int J Cancer* 1995; 64:430-433
2. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L, Kohlenhydrate. In: Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L, eds. *Biochemie*. Heidelberg – Berlin: Spektrum Akademischer Verlag GmbH, 2003: 523-547
3. Lin J, Zhang SM, Cook NR, Rexrode KM, Liu S, Manson JE, Lee IM, Buring JE. Dietary intakes of fruit, vegetables, and fiber, and risk of colorectal cancer in a prospective cohort of woman (United States). *Cancer Causes Control* 2005; 16(3):225-233
4. Blumberg D, Paty PB, Guillem J G, Picon A I, Minsky BD, Wong WD, Cohen AM. All patients with small intramural rectal cancers are at risk for lymph node metastasis. *Dis Colon Rectum* 1999; 42(7):881-885
5. Braumann D, Dörner A, Drescher S, Goth B, de Heer K, Heilmann HP, Höcht ST, Kleeberg UR, Kußmann J, Matthaei P, Rückert K, Schorcht J, Zornig C. *Leitlinien zur kurativen Behandlung des Kolon- und des Rektumkarzinoms* 1999
6. Broders AC. The grading of carcinoma. *Minn Med* 1925; 8:726-730
7. Brodsky JT, Richard GK, Cohen AM, Minsky BD. Variables correlated with he risk of lymph node metastasis in early rectal cancer. *Cancer* 1992; 15(2):322-326
8. Buchmann P. Standard technique of oncologic colorectal surgery. *Swiss Surg.* 2003; 9(3):140-144

9. Bülow S. Clinical features in familial polyposis coli. Results of the Danish Polyposis Register. *Dis Colon Rectum* 1986; 29(2):102-107
10. Compton C, Fenoglio-Preiser CM, Pettigrew N, Fleding LP. American joint Comitee on Cancer prognostic factors consensus conference colorectal working group. *Cancer* 2000; 88:1739-1757
11. Connell WR, Talbot IC, Harpaz N, Britto N, Wilkinson KH, Kamm MA, Lennard-Jones JE. Clinicopathological characteristics of colorectal carcinoma complicating ulcerative colitis. *Gut* 1994; 35:1419-1423
12. Corsale I, Foglia E, Mandato M, Aloise F, Rigutini M, Bartolomei M. Management of the neoplastic stenosis of the left colon with self-expandable endoprosthesis. *G Chir* 2003; 24(11-12):418-421
13. Degiuli M, Mineccia M, Bertone A, Arrigoni A, Pennazio M, Spandre M, Cavallero M, Calvo F. Outcome of laparoscopic colorectal resection. *Surg Endosc* 2004; 18(3):427-432
14. Deinlein P, Reulbach U, Stolte M, Vieth M. Risikofaktoren der lymphogenen Metastasierung von kolorektalen pT1-Karzinomen. *Der Pathologe* 2003; 24:387-393
15. Deutsche Krebsgesellschaft, deutsche Gesellschaft für Chirurgie, deutsche Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten – AWMF Leitlinien 2004; Register Nr. 32/30
16. D'Souza DN, Pera M, Nelson H, Finical SJ, Tran NV. Vaginal reconstruction following resection of primary locally advanced and recurrent colorectal malignancies. *Arch Surg* 2003; 138(12):1340-1343

17. Eisele R. Kolorektales Karzinom Neue Behandlungsansätze - Chirurgische Therapie – Leitlinien Ärztekammer Baden Württemberg 2004
18. Ekblom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Increased risk of large-bowel cancer in Crohn's disease with colonic involvement. *Lancet* 1990; 336:357-359
19. Fielding LP, Arsenault PA, Chapuis PH, Dent O, Gatright B, Hardcastle JD, Hermanek P et al. Clinico- pathological staging for colorectal cancer. International Documentation System (IDS) and an International Comprehensive Anatomical Terminology (ICAT). *J Gastroenterol Hepatol* 1990; 6:325–344
20. Fodde R. The APC Gene in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2002; 38(7):867-871
21. Fogt F, Zimmermann RL, Ross HM, Daly T, Gausas RE. Identification of lymphatic vessels in malignant, adenomatous and normal colonic mucosa using the novel immunostain D2-40. *Oncology Reports* 2004; 11:47-50
22. Fogt F, Pascha TI, Zhang PJ, Gausas RE, Rahemtulla A, Zimmerman RL. Proliferation of D2-40-expressing intestinal lymphatic vessels in the lamina propria in inflammatory bowel disease. *Int J Med* 2004; 13(2):211-221
23. Garcia-Aguilar J, Mellgren A, Sirivongs P, Buie D, Madoff RD, Rothenberg DA. Local excision of rectal cancer without adjuvant therapy. *Ann Surg* 2000; 231(3):345-351
24. Goddard MJ, Wilson B, Grant JW. Comparison of commercially available cytokeratin antibodies in normal and neoplastic adult epithelial and non – epithelial tissues. *J Clin Pathol* 1991; 44:660 - 663
25. Hermanek P. A pathologist's point of view on endoscopically removed polyps of colon and rectum. *Acta Hepatocastroenterol* 1978; 25:169-170

26. Herold G, Heintges T, Kolorektales Karzinom. In: Herold G, ed. Innere Medizin. Köln: Dr.med.Gerd Herold, 2006: 426-431
27. Herranz Amo F, Munoz Jimenez F, Subira Rios D, Gomez Espi M, Calvo Manuel FA. Preservation of the bladder in rectal cancer with prostatic invasion. Actas Urol Esp. 2004; 28(6):447-451
28. Hildebrandt U, Kreissler-Haag D, Lindemann W. Laparoscopy-assisted colorectal resections: morbidity, conversions, outcomes of a decade. Zentralbl Chir 2001; 126(4):323-332
29. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. J Histochem Cytochem 1981; 29:577-580
30. Ichii S, Takeda S, Horii A, Nakatsuru S, Miyoshi Y, Emi M, Fujiwara Y, Koyama K, Furuyama J, Utsunomiya J, Nakamura Y. Detailed analysis of genetic alterations in colorectal tumors from patients with and without familialadenomatous polyposis (FAP). Oncogene 1993; 8:2399–2405
31. Jacques C, de Aquino AM, Ramos-e-Silva M. Cytokeratins and dermatology. Skinmed. Nov – Dec 2005; 4(6):354-360
32. Jass JA, Atkin WS, Cuzick J, Bussey HJ, Morson BC, Northover JM, Todd IP. The grading of rectal cancer: historical perspectives and a multivariate analysis of 447 cases. Histopathology 1986; 10:437-459
33. Junck M. Hereditary carcinoma: pathogenesis and diagnosis. Zentralbl Chir 2000; (125) Suppl 1:8-11
34. Kahn HJ, Marks A. A New monoclonal antibody, D2-40, for detection of lymphatic invasion in primary tumors. Laboratory Investigation 2002; 82(9):1255-1257

35. Kaiserling E. Immunohistochemical identification of lymph vessels with D2-40 in diagnostic pathology. *Pathologe* 2004; 25(5):362-374
36. Kanellos D, Kitsios G, Kanellos I, Demetriades H, Pramateftakis MG, Angelopoulos S, Betsis D. Anaemia as a symptom of right colon cancer *Tech Coloproctol* 2004; 8 Suppl 1:62-64
37. Kikuchi R, Takano M, Takagi K, Fujimoto N, Nozaki R, Fujiyoshi T, Uchida Y. Management of early invasive colorectal cancer. Risk of recurrence and clinical guidelines. *Dis Colon Rectum* 1995; 38:1286-1295
38. Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Tanaka K, Muraoka M, Onda A, Okumura Y, Kishi N, Iwama T, Mori T, Koike M, Ushio K, Chiba M, Nomizu S, Konishi F, Utsunomiya J, Miyaki M. Molecular nature of colon tumors in hereditary nonpolyposis colon cancer, familial polyposis, and sporadic colon cancer. *Gastroenterology* 1996; 111:307–317
39. Kudo S. Endoscopic mucosal resection of flat and depressed types of early colorectal cancer. *Endoscopy* 1993; 25:455-461
40. Lippert H, Kolon und Rektumkarzinom. In: Hirner A, Weise K eds. *Chirurgie Schnitt für Schnitt*. Stuttgart - New York: Georg Thieme, 2004: 616-619
41. Minsky BD, Mies C, Recht A, Rich TA, Chaffey JT. Resectible Adenokarcinoma of the rectosigmoid and rectum. The influence of blood vessel invasion. *Cancer* 1988; 61:1417-1424
42. Miyaki M, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Enomoto M, Igari T, Tanaka K, Muraoka M, Takahashi H, Amada Y, Fukayama M, Maeda Y, Iwama T, Mishima Y, Mori T, Koike M. Characteristics of somatic mutation of the adenomatous polyposis coli gene in colorectal tumors. *Cancer Res* 1994; 54:3011–3020

43. Moll R. Cytokeratins as makers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. *Subcellular Biochemistry* 1998; 31:205-262
44. Munemitsu S, Albert I, Souza B, Rubinfeld B, Polakis P. Regulation of intracellular β - catenin levels by the adenomatous polyposis coli (APC) tumorsuppressor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:3046–3050
45. Nascimbeni R, Burgart LJ, Nivatvongs S, Larson DR. Risk of lymph node metastasis in T1 carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 2002; 45:200-206
46. Nicholson AG, Graham ANJ, Pezzella F, Agnetha G, Goldstraw P, Pastorino U. The use of immunohistochemistry to identify micrometastasis provide useful information in the staging of node-negative non-small cell lung carcinomas? *Lung cancer* 1997; 18:231-240
47. Nürnberg D, Nürnberg S, Schneider C, Vorreiter G. Kolorektale Karzinome 2003-2004. *Onkologischer Sachbericht* 2005: 102-120
48. Onder G, D'Arco C, Fusco D, Bernabei R. Preoperative assessment and risk factors in the surgical treatment of lung cancer: the role of age. *Rays* 2004 Oct-Dec; 29(4):407-411
49. Otto H F, Kolon und Rectum. In: Böcker W, Denk H, Heitz P U, eds. *Pathologie*. München - Jena: Urban & Fischer, 2001: 691-696
50. Rubinfeld B, Souza B, Albert I, Müller O, Chamberlain SH, Masiarz FR, Munemitsu S, Polakis P. Association of the APC gene product with β -catenin. *Science* 1993; 262:1731–1734

51. Sitzler PJ, Seow-Choen F, Ho YH, Leong AP. Lymph node involvement and tumor depth in rectal cancers: analysis in 805 patients. *Dis Colon Rectum* 1997; 40(12):1472-1476
52. Smith AJ, Stern HS, Penner M, Hay K, Mitri A, Bapat BV, Gallinger S. Somatic APC and K-ras codon 12 mutations in aberrant crypt foci from human colons. *Cancer Res* 1994; 54:5527–5530
53. Stief CG, Jonas U, Raab R. Long-term follow-up after surgery for advanced colorectal carcinoma involving the urogenital tract. *Eur Urol* 2002; 41(5):546-550
54. Stolte M, Gastroenterologische Endoskopie. In: Fröhmann P, ed. *Gastroenterologie und Pathologie, Ein Leitfaden zur Diagnostik und Therapie*. Berlin – Heidelberg - New York: Springer, 1992: 67-92
55. Takahashi M, Wakabayashi K. Gene mutations and altered gene expression in azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rodents. *Cancer Sci* 2004; 95(6):475-480
56. Turnbull RB Jr, Kyle K, Watson FR, Spratt J. Cancer of the colon: the influence of the no-touch isolation technic on survival rates. *CA Cancer J Clin* 1968 Mar-Apr; 18(2):82-87
57. UICC 2002. In: Wittekind CH, Meyer HJ, Bootz F, eds. *TNM-Klassifikation maligner Tumoren*. Berlin – Heidelberg - New York: Springer, 2005: 49-54

8. ANHANG

Tis	sog. präinvasives Karzinom: intraepithelial oder mit Infiltration der Lamina propria mucosae (z.B. Adenom mit schwerer Atypie)
T1	Tumor erstreckt sich in die Submucosa
T2	Tumor erstreckt sich in die Lamina muscularis propria
T3	Tumor erstreckt sich in die Lamina muscularis propria hindurch oder in nicht peritonialisiertes perikolisch oder perirektales Gewebe
T4	Tumor durchschreitet das viszerale Peritoneum oder erstreckt sich direkt in andere Organe oder Gewebe
N0	keine Lymphknotenmetastase (Aussage nur erlaubt, wenn zumindest 12 Lymphknoten untersucht sind)
N1	Befall von 1-3 regionären parakolischen/perirektalen Lymphknoten
N2	Befall von vier oder mehr regionären parakolischen /perirektalen Lymphknoten
NX	die Minimalerfordernisse zur Beurteilung liegen nicht vor (z.B. keine Lymphknoten im Präparat vorhanden)
M0	keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen vorhanden
MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden

Tab.3: TNM-Klassifikation der UICC (2002)

UICC-Stadium	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1,T2	N0	M0
II	T3	N0	M0
II	T4	N0	M0
III	Jedes T	N1	M0
III	Jedes T	N2	M0
IV	Jedes T	Jedes N	M1

Tab.4: Stadieneinteilung nach UICC (2002)

Untersuchung	Monate						
	6	12	18	24	36	48	60
Anamnese, körperliche Untersuchung	+ ^b			+			+
Koloskopie ^a	+ ^b			+			+
^a 3 Monate postoperativ, wenn präoperativ Abklärung des gesamten Kolons nicht möglich. Nach dem 5. Jahr alle 3 Jahre Koloskopie.							
^b Nach endoskopischer Abtragung. Spiral-Computertomographie Abdomen: Befundorientiert (z.B. bei unklarem Sonographiebefund, CEA-Anstieg)							

Tab.5: Nachsorgeempfehlung bei Patienten mit Kolonkarzinom. UICC-Stadium I

Untersuchung	Monate						
	6	12	18	24	36	48	60
Anamnese, körperliche Untersuchung, CEA	+	+	+	+	+	+	+
Abdomen-Sonographie	+	+	+	+	+	+	+
Röntgen-Thorax in zwei Ebenen		+		+	+		+
Koloskopie ^a				+			+
^a 3 Monate postoperativ, wenn präoperativ Abklärung des gesamten Kolons nicht möglich. Spiral-Computertomographie Abdomen Befundorientiert (z.B. bei unklarem Sonographiebefund, CEA-Anstieg). Nach dem 5. Jahr alle 3 Jahre Koloskopie.							
Die American Sonographie Society of Clinical Oncology (ASCO) hat 1996 (1) die CEA-Bestimmung bei Patienten mit kolorektalem Karzinom des Stadiums II und III alle 2-3 Monate für 2 Jahre empfohlen, allerdings nur für Patienten, die willens und in der Lage sind, sich einer Leberresektion bei Auftreten von Metastasen zu unterziehen.							

Tab.6: Nachsorgeempfehlung bei Patienten mit Kolonkarzinom. UICC-Stadium II–III

Laufende Nr.	Befundung und Altersangaben			
Laufende Nr.	Befund-Nr.	Jahr des Erstbefundes	Alter 2006	Inzidenzalter
1	14005	1995	70 Jahre	59
2	5410	2003	89 Jahre	86
3	5765	1998	83 Jahre	75
4	6735	2003	58 Jahre	55
5	12440	2002	61 Jahre	57
6	15459	2003	80 Jahre	77
7	25309	2003	80 Jahre	77
8	753, 23833	1995	56 Jahre	46
9	K 41704	2003	55 Jahre	52
10	14706	2003	82 Jahre	79
11	22973	2000	79 Jahre	73
12	1881	2004	63 Jahre	61
13	1487	1994	100 Jahre	88
14	11361	2003	71 Jahre	68
15	7395	1996	72 Jahre	62
16	K 6465	2003	53 Jahre	50
17	K 4909	2000	74 Jahre	68
18	12029	2003	60 Jahre	57
19	K 23124	2003	80 Jahre	77
20	K 36554	2002	82 Jahre	78
21	K 30822	2003	66 Jahre	63
22	K 42042	2003	76 Jahre	73
23	K 43731	2003	74 Jahre	71
24	24757	2001	68 Jahre	57
25	25153	2000	66 Jahre	60
26	8187, 8357	2003	65 Jahre	62
27	22286	2003	69 Jahre	66
28	K 19737	2003	60 Jahre	57
29	K 19018	2002	60 Jahre	56
30	20161	2003	74 Jahre	72
31	19730	2000	64 Jahre	58
32	K 17171	2001	56 Jahre	51
33	16119	1998	73 Jahre	65
34	K 20512	2000	70 Jahre	64
35	23393	1994	65 Jahre	53
36	22718	2001	63 Jahre	58
37	12726	1996	83 Jahre	71
38	12406, 12786	1994	83 Jahre	71
39	13603	1999	78 Jahre	71
40	20295	2001	67 Jahre	62
41	1308	2004	63 Jahre	63
42	2798, 3823	1995	77 Jahre	66
43	3298	1996	72 Jahre	62
44	1354, 4549	1998	92 Jahre	84

45	16906	1992	84 Jahre	70
46	5254	1994	88 Jahre	76
47	17783	2002	76 Jahre	72
48	22779	2003	64 Jahre	61
49	21123	1998	82 Jahre	74
50	15741	2003	85 Jahre	82

Tab.7A: Klinische Daten, Abk.: Nr. = Nummer, K = Städtische Kliniken Kassel

Laufende Nr.	Färbung			Diagnose laut Befund			
Laufende Nr.	D2-40	A Pan-K AK	pL	Diagnose	Staging	Grading	pN
1	0	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
1	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
2	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
3	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1	0
4	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
5	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
6	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
7	1	0	0	AdenoKa	pT1N0M1	G1	0
8	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
9	1	0	0	AdenoKa	pT1N1(1/22)	G1-2	1
10	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
11	1	1	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
12	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
13	1	0	0	AdenoKa	pT1NX	G1-2	k.A.
14	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
15	1	0	0	AdenoKa	pT1NX	G1-2	k.A.
15	0	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
16	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
17	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
18	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
19	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
20	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
21	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
22	1	1	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
23	1	1	1	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
24	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
25	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
26	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
27	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
28	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
29	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
30	1	1	1	AdenoKa	pT1N0	G2	0

31	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
32	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
33	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
34	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
35	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
36	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
37	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
38	1	0	0	AdenoKa	pT1NX	G1-2	k.A.
38	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
39	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
40	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
41	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0
42	0	0	0	AdenoKa	pT1NX	G1-2	k.A.
43	1	0	0	AdenoKa	pT1NX	G1-2	k.A.
44	0	0	0	AdenoKa	pT1NX	G1	k.A.
44	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1	0
45	1	1	1	AdenoKa	pT1N1(2/7)	G1-2	1
46	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
47	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
48	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G1-2	0
49	1	0	0	AdenoKa	pT1NX	G1-2	k.A.
50	1	0	0	AdenoKa	pT1N0	G2	0

Tab.7B: Klinische Daten, Abk.: Nr. = Nummer, A Pan-K AK = Anti Pan-Keratin Antikörper, pL = Lymphgefäßinvasion, pN = Lymphknoteninvasion, AdenoKa = Adenokarzinom, k.A. = keine Aussage

Laufende Nr.	Patientendaten			Vorberichte		Nachberichte	
Laufende Nr.	Geschlecht	Alter 2006	Geb. Jahr	Vorberichte	Jahr	Nachberichte	Jahr
1	m	71 Jahre	1936	n		n	
2	m	89 Jahre	1917	4709	2003	5512	2003
3	m	83 Jahre	1923	n		n	
4	m	58 Jahre	1948	n		6735	2003
5	w	61 Jahre	1945	n		12440	2002
6	m	80 Jahre	1926	n		n	
7	m	80 Jahre	1926	n		n	
8	w	56 Jahre	1950	n		Hausarzt	2003
9	w	55 Jahre	1951	n		43651	2003
10	w	82 Jahre	1924	n		14706	2003
11	m	79 Jahre	1927	n		22973	2000
12	m	63 Jahre	1943	n		n	
13	w	100 Jahre	1906	n		n	
14	w	71 Jahre	1935	n		n	
15	w	72 Jahre	1934	n		7853	1996

16	m	53 Jahre	1953	n		7683	2003
17	m	74 Jahre	1932	n		6145	2000
18	m	60 Jahre	1946	n		12029	2003
19	m	80 Jahre	1926	n		26359	2003
20	w	82 Jahre	1924	n		44798	2002
21	w	66 Jahre	1940	n		33113, 33251	2003
22	m	76 Jahre	1930	n		42459	2003
23	w	74 Jahre	1932	n		46122	2003
24	w	68 Jahre	1938	n		211, 326	2002
25	w	66 Jahre	1940	n		25153	2000
26	m	65 Jahre	1941	n		8357	2003
27	m	69 Jahre	1937	n		22155	2001
28	w	60 Jahre	1946	n		22400	2003
29	m	60 Jahre	1946	n		21710	2002
30	m	74 Jahre	1931	n		20161	2003
31	w	64 Jahre	1942	n		19730	2000
32	m	56 Jahre	1950	n		18710	2001
33	m	73 Jahre	1933	n		n	
34	w	70 Jahre	1936	n		21866	2000
35	w	65 Jahre	1927	n		n	
36	m	63 Jahre	1943	n		22718	2001
37	w	83 Jahre	1923	n		13757	1996
38	m	83 Jahre	1923	12406	1994	12786, 25619	1994
39	w	78 Jahre	1928	n		13603	1999
40	w	67 Jahre	1939	n		20295	2001
41	w	63 Jahre	1943	n		1376	2004
42	w	77 Jahre	1929	n		3823	1995
43	m	72 Jahre	1934	n		n	
44	w	92 Jahre	1914	n		4549	1998
45	w	84 Jahre	1922	n		n	
46	w	88 Jahre	1918	n		n	
47	w	76 Jahre	1930	n		17783	2002
48	w	64 Jahre	1942	n		22833	2003
49	m	82 Jahre	1924	n		n	
50	m	85 Jahre	1921	536	1992	n	

Tab.7C: Klinische Daten, Abk.: Geb. Jahr = Geburtsjahr

Laufende Nr.	OP			Follow-up	
Laufende Nr.	OP	Nachres	Lokalisation	Follow-up	Rezidiv
1	res	n	hemikolon, re	2004	0
2	res	n	sigma	2006	0
3	res	n	sigma	2006	0
4	res	n	hemikolon, re	2004	0
5	res	n	rektosigmoid	2006	0
6	res	n	rektum	2006	0
7	res	n	rektum	2004	0
8	res	753	rektum	2006	1, Restkolektomie 2003
9	endo	43651	sigma	2006	0
10	res	n	kolon	2006	0
11	res	n	kolon	2006	0
12	res	n	kolon	2006	0
13	endo	n	rektum	1999	0
14	res	n	kolon	2003	0
15	endo	7853	sigma	2004	0
15	res	n	sigma	2006	0
16	endo	7683	sigma	2006	0
17	endo	6145	kolon	2005	0
18	res	n	sigma	2006	0
19	endo	26359	rektum	2006	0
20	endo	44798	sigma	2006	0
21	endo	n	sigma	2006	0
22	endo	42459	sigma	2006	0
23	endo	46122	sigma	2006	0
24	endo	211, 326	kolon	2006	0
25	res	n	kolon	2006	0
26	res	n	rektum	2006	0
27	res	n	hemikolon, re	2006	0
28	endo	22400	sigma	2006	0
29	endo	21710	sigma	2006	0
30	res	n	kolon	2004	0
31	res	n	ileocoecum	2006	0
32	res	16922	sigma	2006	0
33	res	n	sigma	2006	0
34	endo	21866	sigma	2006	0
35	res	n	sigma	2005	0
36	res	n	sigma	2005	0
37	endo	13757	sigma	2004	0
38	endo	1.278	rectosigmoid	2006	0
39	res	n	hemikolon, re	2003	0
40	res	n	kolon	2004	0
41	res	n	rektosigmoid	2006	0
42	endo	3823	kolon	2006	0

42	res	n	sigma	2006	0
43	endo	n	rektum	2006	0
44	endo	4549	sigma	2005	0
44	res	n	sigma	2005	0
45	res	n	kolon	2002	0
46	res	n	rektosigmoid	1999	Ovariellles Rezidiv 1998, 1999 verstorben
46					
47	res	n	kolon	2006	0
48	res	n	rektum	2003	0
49	endo	n	rektum	2006	0
50	res	n	hemikolon, re	2003	6 Monate post-operativ verstorben
50					

Tab.7D: Klinische Daten, Abk.: OP = Operationsart, Nachres = Nachresektion, res = radikuläre Darm-Teilresektion, endo = endoskopische Polypabtragung

9. DANKSAGUNG

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. Reinhard Büttner für die Überlassung des Themas, sowie für die Betreuung der Dissertationsarbeit.

Für die Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten, die stetige Hilfe und Unterstützung sowie die geduldige Betreuung möchte ich ganz besonders Dr. Lukas Heukamp danken. Auch in Zeiten, in denen ein Vorankommen mühsam war, gelang es ihm stets eine positive und produktive Arbeits-Atmosphäre zu schaffen.

Die Betreuung des chirurgischen Teils der Dissertation verdanke ich Prof. Dr. Berthold Schneider, Dr. Farzad Housdaran und Dr. Andreas Knoblich.

Frau Christiane Esch und Ihren Kolleginnen möchte ich für die Hilfe und die Geduld in der Erstellung der immunhistochemischen Färbungen danken.

Angela Gruhler möchte ich für das Korrekturlesen, den gedanklichen Austausch, und die Gabe, Durststrecken mit Humor zu stillen, danken.

Mein herzlichster Dank gehört Christian von der Brelie. Unzählige Stunden hat er mit mir und in diese Arbeit investiert und dabei trotz allem die Nerven behalten. Dass es hinter Computerprogrammen Licht gibt, habe ich durch ihn gelernt. Die nötige Geduld mit diesen auch zu arbeiten, konnte ich durch seinen Rückhalt aufbringen.

Meiner Familie möchte ich von Herzen für die bedingungslose Zuversicht danken. Ihr Rückhalt und die stete Zusprache haben mir immer Kraft gegeben.

10. Lebenslauf

Geburtsort

Münster

Familie

Vater: Dr. jur. Wolfgang Lohrberg

Mutter: Eleonore Lohrberg, geb. Freiin von Kondratowicz-Syrokomla

Bruder: Stefan Lohrberg

Schulbildung

1983-1987: Friedrich - Krummacher Grundschule Tecklenburg

1987-1996: Graf Adolf Gymnasium Tecklenburg, Allgemeine Hochschulreife

Studium

1996-1998: Jurastudium, Universität Bremen

1999-2006: Medizinstudium, Rheinische Friedrich – Wilhelms – Universität Bonn

2002: Ärztliche Vorprüfung

2003: Erstes Staatsexamen

2005: Zweites Staatsexamen

2006: Drittes Staatsexamen

Praktisches Jahr

2005: 1. Tertial Gynäkologie, Marien-Hospital Euskirchen

2006: 2. Tertial Chirurgie, Inselspital Bern/Schweiz

2006: 3. Tertial Innere Medizin, Marien-Hospital Euskirchen

Tätigkeiten

2001-2006: Studentische Aushilfskraft, Pädiatrische Hämatologie/Onkologie
Universitätsklinik Bonn

2002-2005: Studentische Aushilfskraft, Chirurgische Intensivstation
Universitätsklinik Bonn

Seit 12/2006: Assistenzärztin der Chirurgie, Johanniter Krankenhaus Bonn